

**LA MÉTHODE DE COLORATION
AU BLEU DE PRUSSE
APPLIQUÉE AU MYÉLOGRAMME
SON INTÉRÊT DANS L'ÉTUDE
DU MÉTABOLISME DU FER**

THÈSE

PRÉSENTÉE

à la FACULTE de MÉDECINE et de PHARMACIE de LYON

et soutenue publiquement le 3 Novembre 1955

POUR OBTENIR LE GRADE DE DOCTEUR EN MÉDECINE

PAR

Jacqueline DEMOLIN-GAUTHEY

Née le 14 Avril 1929 à PONTARLIER (Doubs)



LYON

BOIS Frères

Imprimeurs-Éditeurs

42, quai Gailleton, 42

—
1955

LA METHODE DE COLORATION AU BLEU DE PRUSSE
APPLIQUEE AU MYELOGRAMME
SON INTERET DANS L'ETUDE DU METABOLISME DU FER

**LA MÉTHODE DE COLORATION
AU BLEU DE PRUSSE
APPLIQUÉE AU MYÉLOGRAMME
SON INTÉRÊT DANS L'ÉTUDE
DU MÉTABOLISME DU FER**

THÈSE

PRÉSENTÉE

à la FACULTE de MÉDECINE et de PHARMACIE de LYON

et soutenue publiquement le 3 Novembre 1955

POUR OBTENIR LE GRADE DE DOCTEUR EN MÉDECINE

PAR

Jacqueline DEMOLIN-GAUTHEY

Née le 14 Avril 1929 à PONTARLIER (Doubs)



LYON

BOSC, Frères

Imprimeurs-Éditeurs

42, quai Gailleton, 42

1955

PERSONNEL DE LA FACULTE

Doyen honoraire M I LEPINE. | Doyen. M. HERMANN.
Assesseur. M. GATE.

PROFESSEURS HONORAIRES

MM. NICOLAS, COLLET, CLUZET, BERARD, GUIART, PIERY, CADE, PATEL,
LEPINE, SAVY, TRILLAT, LERICHE, MOURIQUAND MAZEL, LEULIER.

PROFESSEURS

Clinique médicale A.
Clinique médicale B.
Clinique chirurgicale A.
Clinique chirurgicale B.
Clinique ophtalmologique.
Clinique urologique.
Clinique et prophylaxie de la tuberculose.
Clinique dermatologique et syphiligraphique.
Clinique neuro-psychiatrique et hygiène mentale.
Clinique des maladies infectieuses et bactériologie.
Clinique de chirurgie orthopédique et chirurgie infantile.
Clinique gynécologique.
Clinique obstétricale.
Clinique stomatologique.
Clinique médicale infantile et hygiène du premier âge.
Clinique oto-rhino-laryngologique.
Physiologie.
Anatomie pathologique.
Physique biologique, radiologie et physiothérapie.

MM. FROMENT.
P. RAVAUULT.
SANTY.
WERTHEIMER.
BONNET.
CIBERT.
DUFOURT.
GATE.
DECHAUME.
SEDALLIAN.
GUILLEMINET.
POLLOSSON.
PIGEAUD.
DUCLOS.
BERNHEIM.
MAYOUX.
HERMANN.
MARTIN J.-F.
PONTIUS.
(détaché à Beyrouth)
GARIN.
ROCHET.
CHAMBON.
JOSSEAND.
DELORE.
GABRIELLE.
CROIZAT.
ENSELME.
MALLET-GUY.
NOEL.
REVOL.
BOURRET.
LEVRAT.
SOHIER.
JOURDAN.
BERTRAND.
NETIEN.
BADINAND.
ROCHE.
DREVN.

Parasitologie et pathologie exotique.
Thérapeutique chirurgicale et chirurgie opératoire.
Chimie organique et toxicologie.
Pathologie générale et expérimentale.
Hydrologie thérapeutique, climatologie et écologie sociale.
Anatomie.
Pathologie interne.
Chimie biologique et médicale.
Pathologie chirurgicale.
Histologie.
Pharmacie galénique et matière médicale.
Médecine du Travail.
Thérapeutique.
Hygiène et action sanitaire et sociale.
Biologie médicale et pharmacodynamie.
Propédeutique chirurgicale.
Botanique et cryptogamie.
Chimie analytique pharmaceutique.
Médecine légale et déontologie.
Pharmacie et pharmacologie.



PROFESSEURS TITULAIRES SANS CHAIRE

Obstétrique. M. BANSILLON | Physique biologique. M. BERGER.

MAITRES DE CONFERENCES - AGREGES

Parasitologie. MM. COUDERT. | Bactériologie. MM. BERTOYE A.
Parasitologie. ROMAN. | Physiologie. CHATONNET.
Histologie. X... | Physiologie. CIER.
Biochimie médicale | CREYSSER R.

AGREGES EN EXERCICE

Pathologie médicale MM. BRUN. | MM. Orthopédie. MARION Joseph.
Pathologie médicale GIRARD M. | Obstétrique. BROCHIER.
Pathologie médicale GIRARD P. | Obstétrique. MAGNIN.
Pathologie médicale JEUNE. | Obstétrique. MATHIEU J.
Pathologie médicale VACHON. | Anatomie pathologique .. GUICHARD.
Pathologie médicale GALLY. | Anatomie. LATARJET.
Pathologie médicale GONIN. | Urologie. PERRIN.
Pathologie chirurgicale BERARD. | Ophtalmologie. PAUFIQUE.
Pathologie chirurgicale DESJACQUES. | Neuro-chirurgie. LEQUIRE.
Pathologie chirurgicale LABRY. | Oto-rhino-laryngologie ... X...
Pathologie chirurgicale TRILLAT. | Dermato-syphiligraphie. ... THIERS.
Pathologie chirurgicale DARGENT. | Médecine légale et Méde-
Pathologie chirurgicale MANSUY. | cine du Travail. X...
Pathologie chirurgicale GUILLET.

CHARGE DES FONCTIONS DE MAITRE DE CONFERENCES - AGREGÉ

Hygiène. M. BENALET. | Pharmacie et Pharmacologie M. CIER André.
Histologie. M. DUMONT Louis. | Chimie organique
Physique et Biologie... M. MORET. | et Toxicologie... M. PERROT Louis.

LES EXAMINATEURS DE LA THESE :

**Président : M. BERNHEIM ; Assesseurs : MM. CROIZAT,
NOEL et ROCHE.**

La Faculté de Médecine de Lyon déclare que les opinions émises dans les dissertations qui lui sont présentées doivent être considérées comme propres à leurs auteurs et qu'elle n'entend leur donner ni approbation, ni improbation.

IN MEMORIAM

A MA GRAND'-MERE

A MON BEAU-PERE

A MES PARENTS

A MA GRAND'-MERE

A MON MARI, LE DOCTEUR BERNARD DEMOLIN

A MON FILS

A MA SŒUR

A MA TANTE

A MA BELLE-MERE

A MES BELLES-SŒURS

A MES BEAUX-FRÈRES

A tous, en gage de ma profonde et
sincère affection.

A NOTRE PRÉSIDENT DE THÈSE
MONSIEUR LE PROFESSEUR BERNHEIM

C'est à son contact que nous avons acquis toutes nos notions de Pédiatrie. Nous tenons ici à le remercier de tout ce que nous avons appris au cours des mois passés dans son service. Il a bien voulu nous confier ce travail. Qu'il trouve ici l'assurance de notre grande reconnaissance et l'hommage de notre admiration.

A NOS JUGES :

A MONSIEUR LE PROFESSEUR CROIZAT

Nous n'avons pas eu le privilège de suivre son enseignement hospitalier et le regrettons vivement.

Il a mis à notre disposition de nombreuses observations qui ont facilité ce travail et a accepté de faire partie de notre jury. Qu'il trouve ici l'assurance de notre profonde gratitude.

A MONSIEUR LE PROFESSEUR NOEL

Il nous a fait un grand honneur en acceptant d'être notre Juge. Nous le prions de croire à notre profonde reconnaissance. Qu'il trouve ici l'expression de notre respectueuse admiration.

A MONSIEUR LE PROFESSEUR ROCHE

Nous avons eu le plaisir de suivre durant une année son remarquable et vivant enseignement. Il a bien voulu nous guider de ses conseils pour ce travail et accepter d'être notre Juge. Qu'il trouve ici nos remerciements très sincères et l'assurance de notre admiration.

A MONSIEUR LE DOCTEUR MOURIQUAND

Il nous a prodigué, sans compter son temps et ses conseils pour la réalisation de ce travail. Nous avons aussi bénéficié, au cours des mois passés à la Clinique Médicale Infantile, de ses enseignements et de son grand bon sens clinique. Qu'il trouve ici l'assurance de nos très sincères remerciements.

INTRODUCTION

La méthode de coloration du fer au Bleu de Prusse, telle qu'elle fut préconisée par PERLS en 1867, conserve une remarquable actualité en histologie, et, jusqu'à présent, aucune autre méthode n'a pu la supplanter pour la détection du fer dans les tissus.

Ce n'est que très récemment (GRUNEBERG, en 1947) que les cytologistes et plus particulièrement les hématologistes l'ont utilisée pour l'étude de leurs frottis.

Il semble que grâce à elle, une vue nouvelle sur une des phases ultimes du métabolisme du fer, avant son inclusion dans la molécule de protoporphyrine, ait pu être ainsi objectivée ; quand elle est utilisée sur des étalements de moelle osseuse normale, elle révèle en effet, à l'intérieur d'un certain nombre d'érythroblastes des images bien particulières consistant en des granulations prenant le Bleu de Prusse, donc structures contenant du fer non hémoglobinique.

Or, ces faits peuvent être d'un précieux secours pour la compréhension d'un certain nombre de troubles du métabolisme du fer et de l'hémoglobinoïèse ; son intérêt lui réserve une place de choix dans les investigations hématologiques, à côté d'autres examens éprouvés.

Nous nous proposons dans ce travail de montrer l'application de cette méthode au myélogramme, d'exposer les résultats obtenus, et enfin, de tenter une interprétation des faits observés.

HISTORIQUE

H. GRUNEBERG, utilisant la méthode de coloration au Bleu de Prusse préconisée par PERLS et l'appliquant à l'étude des globules rouges, décrivit dans le sang du fœtus humain et dans celui de certaines races de souris, les sidérocytes, c'est-à-dire des érythrocytes porteurs de granulations de fer distinct du fer hémoglobinique. Le même auteur, avec I. DONIACH et J.-E.-G. PEARSON, et par ailleurs A.-M. PAPPENHEIMER, signalèrent chez l'homme, dans certaines conditions, en particulier après splénectomie la présence de ces granulations à l'intérieur des globules rouges.

En ce qui concerne la moelle osseuse, C.-E. RATH et C.-A. FINCH, sur des coupes cette fois, montraient l'existence d'hémossidérine sous forme de grains à l'intérieur des cellules du réticulum et sous forme d'amas extracellulaires. Ces grains représentent la forme de réserve du fer disparaissant dans les anémies sidéropéniques et s'accumulant au contraire chaque fois qu'existe une surcharge anormale des réserves. En 1947, J.-V. DACIE et I. DONIACH attiraient plus particulièrement l'attention sur la présence de granulations semblables dans le cytoplasme des érythroblastes. La même année, A.-J.-S. MAC FADZEAN et L.-J. DAVIS publièrent la première étude d'ensemble sur ce sujet et soulignèrent l'abondance de ces grains dans les érythroblastes des saturnins et dans ceux observés au cours de certaines anémies hémolytiques, mais ils en notaient la rareté chez le sujet normal et dans diverses autres affections hématologiques. Ils considérèrent que ces grains sidérophiles étaient les témoins d'un trouble de la synthèse de l'hémoglobine.

En 1949, J.-V. DACIE et J.-C. WHITE émirent l'opinion que ces grains pourraient bien représenter à l'intérieur de ces érythroblastes une phase normale de l'utilisation du fer par les précurseurs du globule rouge.

R. PIRRIE, en 1952, observa leur présence dans les érythroblastes des cobayes intoxiqués par le plomb.

A.-S. DOUGLAS et J.-V. DACIE, en 1953, présentèrent une étude de la question, en particulier dans certaines anémies hémolytiques. La même année, R. BILGER et K.-H. TETZNER publièrent des recherches sur le même sujet.

E. KAPLAN, W.-W. ZUELZER et C. MOURIQUAND, en 1954, rapportent les résultats d'une étude pratiquée sur 150 nourrissons et enfants normaux ou atteints de diverses hémopathies. Une étude parallèle du fer sérique est faite à ce propos. Le nom de sidéroblastes est proposé pour ces érythroblastes porteurs de granulations ferriques par analogie avec le terme de sidérocytes employé pour les hématies à granulations ferriques du sang périphérique.

C. MOURIQUAND rapporte l'intérêt de la technique dans les anémies nutritionnelles du nourrisson.

M. BERNHEIM, P. MONNET, C. MOURIQUAND et J. LANTERNIER soulignent l'utilité de la coloration au Bleu de Prusse dans l'étude des thalassémies.

M. BERNHEIM et C. MOURIQUAND, en 1954, reprennent la question dans certaines anémies de l'enfance. D. SUNDBERG (1955) insiste sur quelques points particuliers de la question.

Au point de vue expérimental, une étude de ces granulations de fer chez le cobaye normal et le cobaye présentant du scorbut aigu est faite par C. MOURIQUAND et V. EDEL en 1955.

Les troubles du métabolisme du fer tels qu'ils peuvent être mis en évidence par cette technique dans l'anémie de Biermer viennent d'être étudiés par M. SIMON dans sa thèse.

LA COLORATION DU MYELOGRAMME PAR LA METHODE AU BLEU DE PRUSSE

TECHNIQUE

En ce qui concerne le prélèvement de la moelle et son traitement ultérieur, il faut, en principe, prendre certaines précautions : ponction médullaire avec des trocarts en nickel, seringue sans fer, lame et verrerie sans fer, de même que les eaux utilisées pendant la coloration et le lavage. Mais, nous verrons plus tard quand nous discuterons la spécificité de la coloration que ces précautions ne sont pas absolument indispensables.

En ce qui concerne la coloration elle-même, la technique est extrêmement simple. Nous avons pratiqué celle préconisée par A.-J.-S. MAC FADZEAN et L.-J. DAVIS et que L. LISON considère comme la meilleure.

Il est préférable, pour obtenir des structures plus faciles à examiner, de procéder à des étalements médullaires très minces.

Après une fixation de 10 minutes dans les vapeurs de formol, l'étalement est plongé dans un mélange à parties égales d'une solution aqueuse de ferrocyanure de potassium à 2 % et d'acide chlorhydrique à 2 %.

Après une heure de ce bain, l'étalement est lavé longuement (15 minutes environ) dans l'eau courante ; puis on pratique une coloration de fond à la safranine (solution aqueuse à 0,1 %) ou à la fuchsine basique ⁽¹⁾. Dans ce dernier cas, après un séjour dans cette solution d'environ une à trois minutes et un lavage prolongé dans l'eau courante (15 minutes envi-

(1) La solution de réserve de fuchsine basique est ainsi préparée : 1 gr. de fuchsine basique est dissous dans 10 cc. d'alcool absolu, puis on ajoute 90 cc. d'une solution aqueuse de phénol à 5 %. Environ 6 à 10 cc. de cette solution sont ajoutés à 100 cc. d'eau distillée ; c'est ce bain qui servira à la coloration.

ron) on passera rapidement dans l'alcool absolu pour différencier. La lame est alors dressée sur une gaze pour le séchage.

A.-S. DOUGLAS et J.-V. DACIE proposent la variante suivante : fixation dans l'alcool méthylique pendant à 10 minutes, puis séjour de 10 minutes dans une solution de ferrocyanure de potassium à 2 % et d'acide chlorhydrique à 2 %. Ce bain doit être fait à la température de 56°. Le reste de la méthode est semblable à celle décrite ci-dessus. Le mode de fixation à l'alcool méthylique nous semble plus brutal que celui par les vapeurs de formol et pourrait entraîner l'apparition d'artefacts ; d'autre part, il contribuerait à rendre plus difficile la coloration des très fines granulations. Pour cette raison, nous avons préféré ne pas l'utiliser.

A propos de la coloration au Bleu de Prusse, D. SUNDBERG signale un détail technique intéressant et pratique que nous avons fréquemment utilisé auparavant : des lames colorées antérieurement au May Grünwald Giemsa peuvent être à nouveau utilisées pour la coloration au Bleu de Prusse.

Quelle que soit la variante utilisée, le principe qui réside à la base de la coloration est toujours le même : elle vise, pour détecter le fer, à la formation d'un composé spécifique et dépend de la réaction du fer ferrique avec le radical ferrocyanure pour former du ferriferrocyanure.

EXAMEN DES LAMES COLOREES PAR LE BLEU DE PRUSSE

Que voit-on lorsque l'on examine un étalement coloré suivant la technique indiquée ci-dessus ?

L'ENSEMBLE DE LA PRÉPARATION apparaît en rose. En effet, la fuchsine basique a coloré les cytoplasmes et les globules rouges en rose clair, les noyaux en rose plus foncé. Si la coloration cytoplasmique est incapable de révéler certaines structures, à part les granulations des granulocytes éosinophiles, la coloration nucléaire permet par contre une observation suffisante des détails pour les besoins présents. Il est même intéressant de noter que ce sont les noyaux des érythroblastes qui paraissent le mieux prendre la fuchsine. En tout cas, leur aspect est tout à fait évocateur et leur morphologie suffisamment dessinée pour que l'on puisse parfaitement apprécier « l'âge » de l'élément observé dans la série rouge. Nous avons remarqué, que si nous faisons suivre la coloration panoptique par le bain de ferrocyanure de potassium et acide chlorhydrique comme le propose D. SUNDBERG, qu'il était possible de préciser mieux encore la structure nucléaire et le degré de maturation en général de la cellule.

Mais la méthode que nous avons employée nous permet de détecter — et c'est ce qui fait l'objet de ce travail — DES GRANULATIONS DE FER INTRACYTOPLASMIQUES dont nous allons étudier les caractéristiques principales :

La morphologie nucléaire permet de préciser la *date d'apparition* de ces grains. Celle-ci est, dans l'immense majorité des cas, contemporaine de la surcharge hémoglobinique, autrement dit, c'est au stade polychromatophile que l'on commence à les observer. Ils persistent, peut-être encore plus nombreux, au stade orthochromatique. Les travaux de A.-S. DOUGLAS et J.-V. DACIE montrent qu'ils peuvent encore être présents dans

les réticulocytes. En somme, ils existent à tous les stades où la synthèse de l'hémoglobine est active.

Cependant, il arrive que ces grains soient remarqués au niveau d'érythroblastes indiscutablement plus jeunes que les polychromatophiles. Si à l'état normal, ce fait est exceptionnel au niveau du proérythroblaste, on peut l'observer, rarement il est vrai, au niveau de l'érythroblaste basophile. Dans ces conditions, le grain — il en général unique — est de faible taille et accolé à la périphérie du noyau. Dans certains cas pathologiques, nous le verrons (anémie de Biermer, thalassémie, anémie ferriprive en réparation), ces images insolites sont plus fréquentes.

Par la méthode que nous avons employée, ces granulations de fer intracytoplasmiques apparaissent d'une *coloration* bleue et plus fréquemment bleue verte.

Leur *forme* est peu variable. Elle se montre, en effet, régulièrement arrondie mais leur taille, dans la majorité des cas, interdit une appréciation plus précise de leurs contours. Les plus grosses, cependant, présentent volontiers un aspect irrégulier. Nous n'avons que très rarement observé des formes en bâtonnets, telles que les décrivent A.-J.-S. MAC FADZEAN et L.-J. DAVIS.

Leur *taille* est très variable. On peut voir des images extrêmement fines, sortes de poussières bleutées, et à l'autre extrême, des éléments très volumineux atteignant parfois un micron de diamètre dans les cas de grande surcharge. D'une manière générale, cette taille varie proportionnellement au pourcentage des sidéroblastes et une moelle anormalement pourvue en ces cellules montrera dans les cytoplasmes des grains de grande taille et inversement. Il est important de pratiquer l'examen de ces grains en faisant constamment varier la vis micrométrique, sinon un certain nombre de ces éléments risquerait de passer inaperçus ; il n'est pas rare de voir la plupart de ceux-ci, alors que l'image nucléaire est déjà très effacée.

Le *nombre* de ces granulations, à l'intérieur d'un érythroblaste, est variable, et ici également, il est schématiquement proportionnel au degré de la surcharge en fer. Un seul grain peut être observé. D'ordinaire, ils sont plus nombreux, et parfois on en trouve jusqu'à six. Dans les cellules pathologique-

ment riches en ces structures, leur nombre peut avoisiner la quinzaine. En général, ce nombre reste dans des limites assez étroites pour un myélogramme donné.

La *topographie* ne semble pas à première vue obéir à une systématisation quelconque. Ces granulations sont observables dans n'importe quelle région du cytoplasme. Parfois, elles habitent l'extrême périphérie. Dans quelques rares cas, elles sont extracellulaires et collées à la membrane cytoplasmique, suggérant un processus d'expulsion ; mais cette image est trop délicate à interpréter pour qu'on puisse retenir formellement cette hypothèse, qui, si on s'y arrêtaît, serait pourtant, et nous le verrons, d'une importance fondamentale. Parfois, et ceci est une éventualité peu fréquente, le grain est observé sur le noyau, très vraisemblablement dans le cytoplasme qui le recouvre, car sa présence intranucléaire paraît difficile à envisager. Souvent, quand le nombre des granulations est très élevé, celles-ci se montrent volontiers placées immédiatement contre la membrane nucléaire, les unes à côté des autres, formant une structure moniliforme qui entoure plus ou moins complètement le noyau. Sans doute faut-il invoquer à la base de cette topographie un peu particulière des conditions physiques locales de la zone juxta-nucléaire ou l'influence de la membrane nucléaire elle-même plutôt qu'une participation nucléaire plus active à cette disposition curieuse.

Comment, en pratique, apprécie-t-on le *pourcentage des érythroblastes porteurs des granulations de fer* ?

On compte 100 érythroblastes, en notant chaque élément où ces structures sont présentes. Pour différents observateurs entraînés — et cet entraînement est essentiel, car les grains les plus fins risquent d'échapper — on trouve au plus 10 % de différence entre les pourcentages établis sur les mêmes lames. Bien entendu, plusieurs lames du même prélèvement médullaire seront examinées et les différences entre les lames pour le même observateur atteignent au plus 10 %.

Nous aurons à revenir sur la spécificité de cette coloration, mais nous pouvons déjà signaler que les structures mises en évidence par cette méthode n'apparaissent pas par les colorations panoptiques ordinaires. Le May Grunwald Giemsa en particulier ne les colore pas, sauf en cas d'énorme sur-

charge, et encore c'est peu fréquent. D'autres techniques comme le bleu crésyl brillant sont aussi incapables de les révéler.

Les érythroblastes ne seraient pas les seuls éléments de la moelle à contenir des grains de fer. D. SUNDBERG et B.-J. KOZEWSKI ont décrit des grains prenant le Bleu de Prusse à l'intérieur des granulocytes neutrophiles, des lymphocytes, des monocytes et des plasmocytes. Pour notre part, nous n'avons jamais rencontré ces inclusions ailleurs que dans les érythroblastes et certains macrophages, sauf très exceptionnellement en cas d'énorme surcharge médullaire en fer, telle qu'on en voit dans les hémochromatoses. Nous pensons que dans certains cas, les manœuvres de l'étalement peuvent très bien avoir arraché de leur position originelle ces structures et les avoir dispersées au hasard sur la préparation, et, en particulier, dans d'autres éléments que les érythroblastes.

LE FER EXTRACELLULAIRE

En étudiant nos moelles colorées par le bleu de Prusse, nous avons rencontré encore d'autres structures prenant la coloration pour le fer, mais cette fois-ci en dehors des éléments cellulaires et non plus à l'intérieur du cytoplasme ; nous avons donné à ces structures le nom de fer extracellulaire, cette dénomination n'ayant à nos yeux qu'une valeur topographique.

Ce fer extracellulaire se présente sous plusieurs formes ; ce sont :

— Soit des grains isolés dont la taille, la forme et la répartition sont très variables. Les dimensions sont en tout cas supérieures à celles des granulations ci-dessus décrites, et si l'on rencontre de très fines structures, on peut trouver aussi d'énormes grains de 2 à 3 microns. Ils sont en général d'un bleu très intense voisin du noir.

— Soit des amas de grains compacts, volumineux et de teinte foncée.

— Soit enfin des fragments cytoplasmiques, bleutés, arrondis ou ovalaires ou de formes diverses plus ou moins moulés sur les éléments voisins.

Au point de vue topographique, ce fer extracellulaire se trouve de préférence dans les parties de l'étalement les plus riches en éléments réticulaires, c'est-à-dire au niveau des grains médullaires écrasés, plutôt qu'au niveau des parties de l'étalement presque uniquement formées de sang.

Quelles peuvent bien être la signification et la provenance de ce fer dit extracellulaire ? La première idée qui vient à l'esprit quand on l'observe, c'est de le tenir pour un artefact : en effet, sa morphologie variable, sa topographie extracellulaire, sans liaison avec l'activité cellulaire orientée vers une impression de substance étrangère à l'étalement examiné. C'est sans doute ainsi qu'il a été considéré jusqu'à maintenant puisque aucun travail n'en fait mention ; c'est d'ailleurs ainsi que nous l'avons interprété pendant un certain temps et que avertis des images erronées que pouvait donner la coloration au Bleu de Prusse nous n'y avons pas prêté attention.

Cependant, après l'étude de plusieurs centaines d'étalements, nous pensons qu'il faut réviser ce jugement : ces éléments colorés par le Bleu de Prusse, en dehors des cellules, ne seraient pas des artefacts, mais des éléments authentiquement médullaires. Nous avons plusieurs arguments en faveur de cette assertion :

— Ce fer extracellulaire ne se rencontre jamais dans les moelles d'anémie ferriprive, et se rencontre au contraire au maximum dans les moelles surchargées de fer (anémies mégaloblastiques, hémochromatose, saturnisme, thalassémie majeure).

— D'autre part, si l'on colore simultanément et dans le même bain bien entendu des myélogrammes d'anémies ferriprives et des étalements surchargés en fer, le fer extracellulaire ne se rencontre qu'à l'observation de ces dernières lames et jamais sur les premières.

Par ailleurs, l'emploi de matériel entièrement dépourvu de fer, y compris l'eau de lavage, n'influence en rien l'apparence de ce fer extracellulaire.

— enfin, il arrive, et l'étude des anémies saturnines humaines ou celle des cobayes normaux est très éloquente à ce propos, que l'on observe des grains de fer à l'intérieur des macrophages. En général, il s'agit de grains de taille beaucoup plus impor-

tante et d'allure beaucoup plus grossière que les fines granulations intracytoplasmiques que nous avons décrites ; un même macrophage en présente un nombre plus ou moins grand, mais toujours supérieur à ce que l'on trouve à l'intérieur de l'érythroblaste. D'autres fois, on ne peut plus parler de grains, mais bien de véritables « boules » incluses à l'intérieur de ces macrophages. Dans d'autres cas encore, aucun grain ou aucune structure de ce genre n'est visible ; le cytoplasme de l'élément examiné se présente simplement avec une coloration de fond discrètement bleuâtre (1) ; cette coloration cytoplasmique discrète ne concerne en général qu'une petite partie du cytoplasme du macrophage, volontiers les prolongements pseudopodiaux.

Or, nous avons vu plus haut en examinant la morphologie et la topographie du fer extracellulaire qu'il se présentait soit sous forme de grains ou d'amas de taille variable, soit sous forme de fragments de teinte bleuâtre suggérant une origine cytoplasmique, qu'il se situait dans les zones de l'étalement riches en éléments cellulaires. L'étude du fer extracellulaire d'une part, et celle des cellules ayant phagocyté du fer d'autre part (telle qu'elle peut être faite sur des étalements de moelle osseuse d'anémie saturnine humaine par exemple ou même de cobayes normaux) oblige à établir une relation entre les images observées de part et d'autre par la coloration au bleu de Prusse et même à évoquer leur identité. Si celle-ci pouvait être formellement démontrée, ce fer extracellulaire serait le représentant des réserves médullaires de fer qui, on le sait, sont déposées dans les éléments du système réticuloendothélial.

C.A. FINCH et H.E. HUTCHINSON ont fait de très intéressantes observations non plus sur des étalements de moelle, mais sur des coupes de moelles colorées au bleu de Prusse. Après l'étude de multiples coupes dans des anémies diverses, où les réserves de fer étaient soit diminuées, ou épuisées comme dans les anémies ferriprives, soit augmentées comme dans les anémies pernicieuses, ils sont arrivés à la conclusion que la coloration au bleu de Prusse mettait en évidence l'état des réserves au niveau des cellules endothéliales, les coupes étant suivant les cas ou

(1) Rappelons à ce propos que certains auteurs (C.-A. FINCH, D. SUNDBERG) considèrent cette coloration comme peut-être en rapport avec une quantité importante de fer sous forme de ferritine. Mais, il ne semble pas que la ferritine prenne le Bleu de Prusse.

dépourvues ou très riches en ce fer de réserve. Ces observations sont parallèles aux nôtres en ce qui concerne le fer non érythroblastique.

Nous avons donc l'impression que le fer que nous avons appelé extracellulaire, parce qu'effectivement nous l'avions observé hors de toute structure cellulaire, n'est pas autre chose que le fer des macrophages et des cellules réticulaires ; l'étalement du grain de moelle a rompu ses éléments dont on connaît la fragilité et leur contenu s'est ainsi dispersé. L'histologiste, utilisant une méthode qui préserve ces cellules, observe au contraire ce fer dans ses véritables lieux de dépôt, non altérés.

A côté du décompte des sidéroblastes, nous avons systématiquement évalué ce fer extracellulaire, il est vrai d'une façon bien arbitraire et qui a l'immense désavantage de laisser seul l'observateur maître de l'apprécier ; c'est dire les possibilités de variations d'un observateur à l'autre. Pour l'évaluer correctement, il faut parcourir un grand nombre de lames, car il est très irrégulièrement réparti, contrairement à celui des sidéroblastes.

Le barème (0 pour les moelles dépourvues de fer extracellulaire jusqu'à ++++ pour les moelles les plus riches, la moelle d'adulte normal variant entre + et ++) établi à une époque où nous pensions que ce fer extracellulaire n'était autre chose qu'un artefact, a eu le mérite de souligner la différence qui existe à son propos entre les moelles osseuses d'adultes normaux et les moelles osseuses de nourrissons normaux. Dans les premières, nous avons en général toujours observé, en quantité plus ou moins importante, ce fer dit extracellulaire alors qu'au contraire, il était constamment absent chez le nourrisson à l'état de santé. Ceci nous semble bien refléter la fragilité du nourrisson normal en ce qui concerne les réserves de fer et la facilité avec laquelle il peut verser dans la sidéropénie si ses besoins ne sont pas assurés par une alimentation correcte. Cette absence de fer extracellulaire est constatée chez le nourrisson dès les premiers jours de la vie, c'est-à-dire au cours d'une période où en principe, et si tout s'est passé normalement (grossesse normale, naissance à terme), ce nourrisson vit justement sur les réserves de fer qu'il a accumulées pendant la dernière période de la gestation. Cette absence de fer extracellulaire n'est pas

l'apanage exclusif des moelles de la première enfance ; on peut dire qu'elle est presque la règle plus tard dans la seconde enfance. Il sera important d'avoir des documents histologiques à ce sujet et si nous acceptons le fer extracellulaire comme synonyme de fer de réserve, ces faits indiqueraient qu'au niveau de la moelle osseuse tout au moins, le nourrisson et l'enfant sont très peu pourvus en réserves.

LES OBSERVATIONS

Nous avons entrepris systématiquement l'étude de nos myélogrammes par cette technique. Nous nous proposons de rapporter maintenant les résultats que nous avons pu recueillir de cette façon. Ils concernent aussi bien des sujets normaux que des sujets atteints d'affections hématologiques diverses ou même dans certains cas d'affections toutes autres que des maladies du sang.

Nous verrons que l'étude de ces observations permet de tirer des conclusions très intéressantes, aussi bien au point de vue physiologique et physiopathologique que pratique.

LES CAS NORMAUX

Dans les cas normaux, nous trouvons toujours un nombre de sidéroblastes variant entre 25 % et 80 % ; le pourcentage normal des sidéroblastes varie donc dans des limites assez larges.

Les grains de fer sont faciles à voir, mais néanmoins d'apparence fine. Par ailleurs, leur nombre à l'intérieur d'une seule cellule érythroblastique est en général discret, ne dépassant jamais trois ou quatre.

Voici quelques observations d'enfants non anémiques où les sidéroblastes, en nombre normal varient entre 25 % et 75 % :

— Jeanine C..., 3 ans 1/2, purpura infectieux.

G.R. : 4.210.000, Hb : 73 %.

Sidéroblastes : 25 %

— Denise M..., 4 ans, purpurā infectieux.

G.R. : 4.850.000, Hb : 81 %.

Sidéroblastes : 65 %

— Mireille B..., 6 ans, purpura d'étiologie indéterminée.

G.R. : 4.390.000, Hb : 92 %.

Sidéroblastes : 55 %

— Anita G..., 11 ans, méningite tuberculeuse guérie.

G.R. : 4.400.000, Hb : 85 %

Sidéroblastes : 35 %

— Lucien P..., 11 ans, examen négatif.

G.R. : 3.430.000, Hb : 85 %.

Sidéroblastes : 40 %

— Jacqueline R..., rhumatisme cardiaque.

G.R. : 4.450.000, Hb : 85 %.

Sidéroblastes : 75 %

LES ANEMIES FERRIPRIVES

Nous avons rangé dans ce groupe des anémies ferriprives aussi bien les anémies par carence d'apport en fer — ce sont les plus fréquentes dans nos observations — que les anémies consécutives à des hémorragies occultes. Nous pouvons les envisager sans inconvénient ensemble, car, en ce qui concerne notre sujet, anémie nutritionnelle ferriprive et anémie posthémorragique ont les mêmes conséquences.

Au cours des anémies ferriprives, le nombre des érythroblastes porteurs de granulations de fer diminue considérablement. Leur taux est toujours situé en dessous de 20 %, et dans de très nombreux cas, ils sont totalement absents.

Les granulations de fer diminuent non seulement de nombre, mais aussi de taille au point de devenir de fines poussières qui risquent d'échapper à l'observation.

Au-dessous de 20 %, le taux des sidéroblastes signifie pour nous hyposidérémie. D'ailleurs ce diagnostic se trouve toujours confirmé quand on pratique en même temps, un dosage du fer sérique : le taux de celui-ci est alors constamment abaissé. Si nous insistons sur ce parallélisme qui existe entre le taux des sidéroblastes et celui du fer sérique, c'est que chez le nourrisson il comporte une certaine importance pratique : en effet les méthodes actuelles de dosage du fer sérique impliquent un prélèvement de 8 à 10 cc., et chez le nourrisson, par exemple, on désire autant que possible éviter une ponction de cette importance. Par contre, la ponction médullaire est un geste anodin et l'examen de la moelle colorée au bleu de Prusse permet une réponse moins précise certes que le fer sérique, mais suffisante pour le clinicien.

D'autre part, il existe chez le nourrisson, un nombre considérable de moelles osseuses extrêmement pauvres en fer, ou même complètement dépourvues de celui-ci, alors qu'il n'y a aucune manifestation clinique de ferriprive, pas de pâleur, et

même pas quelquefois de stigmates hématologiques. L'apparition dans la suite d'une anémie bien caractérisée, et cliniquement et par les examens de laboratoire, ou au contraire les bienfaits d'une thérapeutique martiale appliquée à temps, permettent de penser que la baisse des sidéroblastes est le plus précoce des signes de ferriprivie : en effet la baisse du taux des sidéroblastes précède souvent celle du chiffre de l'hémoglobine et de la numération des globules rouges. L'abaissement ou même la disparition des sidéroblastes chez un nourrisson apparemment bien portant peut donc bien être interprété, nous semble-t-il, comme un signe de ferriprivie « infraclinique ».

Quant au fer extracellulaire il est bien naturel qu'il soit complètement introuvable dans les cas d'anémie ferriprive puisqu'il était déjà absent des moelles de nourrissons et même d'enfants normaux.

Nous avons réuni ci-dessous un certain nombre d'anémies ferriprives observées chez des nourrissons ou des enfants.

Premier groupe : Anémies ferriprives nutritionnelles.

— Richard M..., 1 an, fistule rectouréthrale et anémie ferriprive nutritionnelle.

G.R. : 4.740.000, Hb : 35 %, V.G. : 0,38.

Sidéroblastes : 0 %

— Bernadette P..., 7 mois, hypotrophie et anémie ferriprive nutritionnelle.

G.R. : 3.100.000, Hb : 40 %, V.G. : 0,64.

Sidéroblastes : 0 %

— Michel P..., 1 an, anémie ferriprive nutritionnelle.

G.R. : 4.640.000, Hb : 7,2 gr., V.G. : 0,48.

Sidéroblastes : 0 %

— Bernadette P..., 8 mois, grosse hypotrophie et anémie ferriprive nutritionnelle.

G.R. : 4.350.000, Hb : 80 %, V.G. : 0,9.

Sidéroblastes : 0 %

— Gérard G..., 18 mois, rachitisme ostéomalacique et anémie ferriprive nutritionnelle.

G.R. : 3.620.000, Hb : 47 %, V.G. : 0,65.

Sidéroblastes : 0 %

Fer sérique : 47 gammas.

— X. M..., 1 an, anémie ferriprive nutritionnelle.

G.R. : 4.020.000, Hb : 50 %, V.G. : 0,62.

Sidéroblastes : 0 %

Fer extracellulaire : 0.

— Chantal D..., 21 mois, anémie ferriprive nutritionnelle.

G.R. : 4.240.000, Hb : 45 %, V.G. : 0,53.

Sidéroblastes : 0 %.

— Bernard D..., 1 an, anémie ferriprive nutritionnelle.

Hb : 7,2 gr.

Sidéroblastes : 0 %

Fer extracellulaire : 0.

— Daniel V..., 7 mois, anémie hypochrome.

G.R. : 4.410.000, Hb : 56 %, V.G. : 0,70.

Sidéroblastes : 5 %

Fer extracellulaire : 0.

Deuxième groupe : Anémies ferriprives post-hémorragiques.

— Evelyne B..., purpura d'origine indéterminée et anémie.

G.R. : 4.480.000, Hb : 61 %, V.G. : 0,68.

Sidéroblastes : 0 %

Fer extracellulaire : 0.

— Roländ B..., hémorragie rectale et purpura.

G.R. : 3.200.000, Hb : 50 %, V.G. : 0,78.

Sidéroblastes : 0 %

Fer extracellulaire : 0.

— Anne R..., 4 ans, hémorragies par polype rectal.

G.R. : 3.050.000, Hb : 32 %, V.G. : 0,52.
Sidéroblastes : 0 %
Fer extracellulaire : 0.

— M... (adulte), ménorragies abondantes.

G.R. : 3.400.000, Hb : 30 %, V.G. : 0,44.
Sidéroblastes : 0 %

— Bruno S..., 6 mois, purpura et hémorragies rétinienne massives.

G.R. : 2.880.000, Hb : 9,7 gr., V.G. : 1,16.
Sidéroblastes : 15 %
Fer extracellulaire : 0.

— Jean-Marie D..., 3 ans 1/2, purpura thrombocytopénique et hématuries.

G.R. : 3.750.000, Hb : 82 %, V.G. : 1,09.
Sidéroblastes : 5 %

— Jeanine C..., 3 ans, purpura thrombocytopénique avec nombreuses ecchymoses, épistaxis et mœlena importants.

G.R. : 4.210.000, Hb : 73 %, V.G. : 0,86.
Sidéroblastes : 20 %

— Claire G..., 11 ans, ulcère de l'angulus avec Weber positif.

G.R. : 2.890.000, Hb : 7,2 gr., V.G. : 0,77.
Sidéroblastes : 0 %

Nous avons suivi certains de nos malades par des myélogrammes en cours de traitement ou après traitement par le fer (ce fer fut administré par voie orale, soit sous la forme de Protoxalate associé à la Vitamine C, soit sous forme de Gluconate ferreux) ⁽¹⁾; ces examens répétés ont permis de faire les constatations suivantes :

— l'administration de fer fait remonter le taux des sidéroblastes et ce taux s'améliore au fur et à mesure que le traitement se poursuit jusqu'à revenir à des valeurs normales ;

(1) Gluconate ferreux : présenté sous le nom de Ferronicum par les Laboratoires Sandoz (dragées à 0,20 gr.).

— il semble bien que l'augmentation du taux des sidéroblastes précède les modifications de l'hémoglobine et de la numération. De même qu'une disparition des sidéroblastes peut faire craindre une anémie à brève échéance, de même leur ascension au cours de la thérapeutique martiale permet d'espérer une amélioration prochaine alors que les autres examens de laboratoire ne permettent, eux, à ce moment, aucune prévision.

Voici encore un certain nombre d'observations qui illustrent ce que nous venons de dire :

— Gilles B..., mongolisme et anémie ferriprive d'origine nutritionnelle particulièrement intense.

Avant traitement : G.R. : 1.870.000, Hb : 15 %, V.G. : 0,41.

Sidéroblastes : 0 %

Après 11 jours de traitement au gluconate ferreux à raison de 6 dragées à 0,20 gr. par jour :

G.R. : 1.430.000, Hb : 40 %, V.G. : 1,35.

Sidéroblastes : 40 %

— Richard M..., 7 mois, anémie d'origine nutritionnelle.

Avant traitement : G.R. : 3.710.000, Hb : 36 %, V.G. : 0,48.

Sidéroblastes : 0 %

Après 10 jours de traitement au gluconate ferreux à raison de 4 dragées à 0,20 gr. par jour.

Sidéroblastes : 40 %

— Roland D..., 7 mois, cardiopathie congénitale et anémie ferriprive.

Avant traitement : G.R. : 1.910.000, Hb : 31 %, V.G. : 0,77.

Sidéroblastes : 0 %

Après 12 jours de traitement au gluconate ferreux à raison de 3 dragées à 0,20 gr. par jour :

G.R. : 3.570.000, Hb : 55 %, V.G. : 0,8.

Sidéroblastes : 75 %

— Michèle B..., 4 ans, hémorragies digestives.

Avant traitement : G.R. : 2.460.000, Hb : 35, V.G. : 0,71.

Fer sérique : 25 gammas.

Sidéroblastes : 0 %

Après 15 jours de traitement par le gluconate ferreux à raison de 6 dragées à 0,20 gr. par jour :

G.R. : 3.350.000, Hb : 61 %.

Sidéroblastes : 80 %

— Naïdja M..., 2 ans, ictère, splénomégalie, hépatomégalie et anémie ferriprive.

Avant traitement : G.R. : 2.410.000, Hb : 35 %, V.G. : 0,72.

Sidéroblastes : 0 %

Après traitement par le gluconate ferreux pendant 6 jours à raison de 4 dragées à 0,20 gr. par jour et deux transfusions de 100 et 120 cc. :

G.R. : 3.600.000, Hb : 58 %, V.G. : 0,80.

Sidéroblastes : 15 %

— Abd et Kader C..., 3 ans 1/2, anémie ferriprive d'origine nutritionnelle.

Avant traitement : G.R. : 2.340.000, Hb : 40 %, V.G. : 0,85.

Sidéroblastes : 0 %

Après 14 jours de traitement par le gluconate ferreux à raison de 5 dragées à 0,20 gr. par jour :

G.R. : 3.140.000, Hb : 57 %, V.G. : 0,90.

Sidéroblastes : 65 %

— Gérard D..., 13 ans, maladie de Hodgkin et anémie ferriprive.
Avant traitement de l'anémie :

G.R. : 4.050.000, Hb : 57 %, V.G. : 0,84.

Sidéroblastes : 10 %

Après 10 jours de traitement au gluconate ferreux à raison de 6 dragées à 0,20 gr. par jour :

G.R. : 4.160.000, Hb : 70 %, V.G. : 0,84.

Sidéroblastes : 85 %

— Gisèle G..., 22 mois, anémie nutritionnelle ferriprive.

Avant traitement : G.R. : 3.340.000, Hb : 4 gr.

Sidéroblastes : 0 %

Traitement : 2 perfusions sanguines de 30 cc., puis 50 cc. respectivement à 3 jours d'intervalle associées à du protoxalate de fer (4 prises quotidiennes de 0,25 gr. avec à chaque prise 0,50 gr. d'acide ascorbique) ; après une semaine de traitement :

G.R. : 1.000.000, Hb : 8 gr.

Sidéroblastes : 50 %

— X. M..., 3 ans 12, purpura infectieux avec ecchymoses extrêmement nombreuses.

Avant traitement : G.R. : 4.860.000, Hb : 51 %, V.G. : 0,83.

Sidéroblastes : 15 %

Fer extracellulaire : 0.

Après traitement : G.R. : 3.340.000, Hb : 70 %, V.G. : 1,04.

Sidéroblastes : 65 %

Fer extracellulaire : 0.

— Eliane G..., 12 ans, ulcus duodénal, anémie par hémorragie avec Weber positif.

Avant traitement : G.R. : 3.100.000, Hb : 48 %, V.G. : 0,77.

Sidéroblastes : 0 %

Fer sérique : 44 gammas.

Après traitement (500 cc. de sang) :

G.R. : 4.808.000, Hb : 76 %.

Sidéroblastes : 10 %

— Janine O..., 1 an, anémie nutritionnelle ferriprive.

Avant traitement : G.R. : 1.460.000, Hb : 10 %, V.G. : 0,34.

Sidéroblastes : 0 %

Après traitement : 2 transfusions de 70 cc. de sang complet les deux premiers jours ; une de 25 cc. le troisième jour de l'hospitalisation ; puis protoxalate de fer à raison de 0,50 gr. par jour ; 15 jours de traitement :

G.R. : 3.500.000, Hb : 73 %, V.G. : 0,9.

Sidéroblastes : 25 %

— Alain B..., 16 mois, anémie nutritionnelle ferriprive.

Avant traitement : G.R. : 4.910.000, Hb : 44 %, V.G. : 0,44.

Sidéroblastes : 0 %

Après 20 jours de traitement au protoxalate de fer (0,50 gr. par jour) associé à la vitamine C (0,20 gr. par jour) :

G.R. : 4.030.000, Hb : 75 %, V.G. : 0,93.

Sidéroblastes : 30 %

— Henri P..., 3 ans, anémie nutritionnelle ferriprive.

Avant traitement : G.R. : 4.610.000.

Sidéroblastes : 0 %

Après un mois de traitement par le protoxalate de fer (1 gr. par jour) et la vitamine C (0,50 gr. par jour) :

G.R. : 3.350.000, Hb : 11,5 gr.

Sidéroblastes : 60 % .

A propos de la précession de l'augmentation des sidéroblastes sur celle du chiffre de l'hémoglobine, voici trois observations assez typiques dont les deux premières sont dues à l'obligeance de M. le Professeur MONNET :

— Didier D..., 9 mois, jumeau prématuré à 7 mois, pesant 1 kg. 820 à la naissance ; anémie ferriprive nutritionnelle.

Avant traitement : G.R. : 4.500.000, Hb : 59 %, V.G. : 0,6.

Après 7 jours de traitement au fer et à la vitamine C :

G.R. : 4.950.000, Hb : 60 %, V.G. : 0,62.

Les sidéroblastes ne sont examinés qu'à cette période et on les trouve à 50 % ; ce taux contraste avec l'hypochromie encore existante, mais 5 jours après ce résultat, on notait l'influence heureuse du traitement martial sur l'anémie.

— Denis D..., 9 mois, frère jumeau du précédent, prématuré à 7 mois, pesant 2 kg. à la naissance ; anémie ferriprive nutritionnelle.

G.R. : 4.100.000, Hb : 32 %, V.G. : 0,39.

Après 6 jours de traitement martial associé à la vitamine C :

G.R. : 4.700.000, Hb : 58 %, V.G. : 0,60.

L'examen des sidéroblastes est fait 4 jours après ce dernier résultat, ils sont à 25 %. Là encore existe un contraste avec l'hypochromie constatée, quoique améliorée ; mais au 12^e jour du traitement, c'est-à-dire 6 jours après, une nette amélioration de l'anémie est constatée.

— Salvador R..., 1 an, anémie nutritionnelle ferriprive.

Avant traitement : G.R. : 3.610.000, Hb : 47 %, V.G. : 0,65.

Sidéroblastes : 0 %

Fer sérique : 9 gammās.

Après 20 jours de traitement par le protoxalate de fer (0,50 gr. par jour) et la vitamine C (0,50 gr. par jour) :

G.R. : 4.220.000, Hb : 50 %, V.G. : 0,59.

Sidéroblastes : 95 %

Fer sérique : 104 gammās.

Dans ce dernier cas aussi, le retour à la normale du taux des sidéroblastes a largement devancé celui des globules rouges et de l'hémoglobine.

Résumé des observations.

— Nous avons donc réuni 30 observations d'anémies ferriprives :

Pour 24 d'entre elles, le taux des sidéroblastes était à 0 %.

Pour les 6 autres, le taux des sidéroblastes se situait entre 5 et 20 %, chiffre encore nettement abaissé.

— Le taux des sidéroblastes fut examiné après traitement pour 13 de ces mêmes malades. Pour 11 d'entre eux, le taux des sidéroblastes était revenu à la normale ; pour les 2 autres, il y avait aussi une amélioration, mais les chiffres étaient respecti-

vement de 10 % et 15 %, c'est-à-dire un peu abaissé par rapport à la normale.

— Enfin, 3 observations dans lesquelles le taux des sidéroblastes était revenu à la normale, bien avant celui des globules rouges et de l'hémoglobine.

Après ce groupe des anémies ferriprives, nous envisagerons un certain nombre d'affections hématologiques (anémie de Biermer, anémie mégaloblastique du nourrisson, thalassémie, etc.) et non hématologiques, telles que cirrhose et hémochromatose, qui, au premier abord n'ont aucun rapport entre elles.

Mais, en ce qui concerne ce travail, la coloration au bleu de Prusse révèle pour elles toutes une accumulation de fer dans la moelle osseuse sous forme de sidéroblastes et sous forme de fer extracellulaire.

Nous pensons donc, que pour la commodité de l'exposé, nous pouvons dès maintenant décrire l'aspect commun que revêt la moelle osseuse dans ces cas de surcharge.

En ce qui concerne le nombre des sidéroblastes, l'augmentation est toujours très importante et leur taux se situe dans la majorité des cas entre 90.1% et 100.1%.

D'autre part, chaque érythroblaste considéré séparément contient une quantité de grains de fer bien supérieure à la normale et ces granulations ont elles-mêmes une taille beaucoup plus importante que celle des granulations observées dans les moelles de sujets sains, et a fortiori dans celles de sujets ferriprives.

A côté de ce nombre considérable de sidéroblastes, on note l'accumulation du fer extracellulaire :

Les amas de fer sont extrêmement abondants ; leur dimension est, en général, supérieure à la normale ; ils entrent même parfois en coalescence ou se groupent en plages de plus ou moins grande taille. De ce fait, leur coloration varie ; pour les plus grosses de ces granulations, seuls les bords apparaissent de la teinte bleu-verdâtre que nous avons décrite plus haut, alors que l'amas lui-même est coloré d'un noir intense.

LA THALASSEMIE

L'un des mécanismes pathogéniques fondamental de la thalassémie semble résider dans un trouble du métabolisme du fer :

En effet, pour une formation normale de l'hémoglobine, il faut que se succèdent deux mécanismes tous deux indispensables, qui sont la transformation de la coproporphyrine III en protoporphyrine III, puis l'incorporation du fer dans le noyau de protoporphyrine.

Dans le cas de la thalassémie, il semble que le mécanisme de synthèse des porphyrines soit troublé : certains auteurs, tels que SCHWARTZ-TIENE et d'autres ont effectué chez divers malades atteints de thalassémies graves ou atténuées des dosages de la coproporphyrine et de la protoporphyrine globulaires libres et ont trouvé dans leurs globules des quantités élevées de coproporphyrine libre et, au contraire, des quantités anormalement basses de protoporphyrine ; d'autre part, ces sujets présentaient une augmentation de la coproporphyrinurie. Il y a donc certainement un dérèglement du métabolisme de ces corps, et sans doute, une impossibilité de transformation de la coproporphyrine III en protoporphyrine III. Il s'en suit une insuffisance de la fabrication de l'hémoglobine, d'où hypochromie, et en même temps, une inutilisation du fer qui s'accumule dans ses lieux de dépôt.

Si l'on colore un myélogramme de thalassémique par le bleu de Prusse, on constate en effet, une augmentation du fer dans l'étalement, sous forme de sidéroblastes — et dans ce cas, pratiquement tous les érythroblastes sont des sidéroblastes abondamment pourvus en grains ferriques.

Le fer extracellulaire est, lui aussi, augmenté de façon considérable. D'autre part, on observe dans ces mêmes érythroblastes surchargés de fer des lésions ferriprives telles que les ont décrites MM. REVOL et MOREL.

Le myélogramme, à lui seul, objective donc bien cette inuti-

lisation du fer aux fins de l'hémoglobinoïèse : il y a coexistence paradoxale de l'hypochromie et de la surcharge en fer.

Les rates myéloïdes de ces malades (plus précisément ceux porteurs de la forme majeure) présentent un pourcentage de sidéroblastes semblable à celui de la moelle osseuse et le fer extracellulaire y est extrêmement abondant. Surcharge en fer de la rate et de la moelle osseuse ne sont sans doute que des cas particuliers de l'hémosidérose que présentent ces malades.

Les surcharges de fer les plus importantes se voient dans les thalassémies majeures et dans les cas graves de thalassémie mineure.

Dans les formes bénignes, le pourcentage des sidéroblastes n'a pas un taux aussi évocateur que dans les formes graves : il est en général normal. Mais la présence de l'hypochromie réelle coexistant avec la présence de fer dans les centres érythroformateurs suggère de la même façon qu'il existe un blocage de la synthèse de l'hémoglobine. Le myélogramme coloré par le bleu de Prusse conserve donc toute sa valeur diagnostique.

Signalons enfin, comme dans les cas précédents, le parallélisme du taux des sidéroblastes avec celui du fer sérique. Celui-ci est en général augmenté dans les formes majeures.

Voici pour illustrer ce chapitre les cinq observations de thalassémie que nous avons pu réunir :

— Antonia C..., 3 mois, thalassémie majeure.

G.R. : 1.970.000, Hb : 28 %, V.G. : 0,71.

R.G. incipiens : 4,6, R.G. terminale : 2,3.

Hb fœtale : 60 %.

Sidéroblastes : 100 %

Le père et la mère sont porteurs hétérozygotes (micropolycytémie avec résistance globulaire augmentée et dystrophies caractéristiques des hématies).

— Lakdar B..., 14 ans, thalassémie sévère.

G.R. : 2.700.000, Hb : 6 gr., V.G. : 0,6.

R.G. incipiens : 4,2, non terminale à 2,2.

Hb fœtale : 24 %.

Sidéroblastes : 95 %

Fer sérique : 114 gammas.

Père micropolycytémique, mère non examinée (décédée).

— Génésio V..., 32 ans (observation due à l'obligeance de M. le Docteur REVOL), thalassémie mineure.

G.R. : 6.970.000, Hb : 13,6 gr., V.G. : 0,71.

R.G. incipiens : 3,8, non terminale à 3,2.

Sidéroblastes : 25 %

Le père du malade présente des malformations érythrocytaires (leptocytose en particulier) ainsi que les collatéraux ; ces malformations sont compatibles avec le diagnostic de thalassémie mineure. Mais, c'est le seul examen que nous ayons de la famille du malade. La mère est normale au point de vue morphologie globulaire.

— Maurice L..., 19 ans, thalassémie mineure et myxœdème congénital.

G.R. : 5.470.000, Hb : 11,5 gr., V.G. : 0,66.

R.G. incipiens : 3,8, non terminale à 2,2.

Hb fœtale : 5 %.

Fer sérique : 130 gammas.

Sidéroblastes : 70 %

La mère est hématologiquement normale, et le père porteur hétérozygote.

— Enfant T..., 14 mois, thalassémie mineure.

G.R. : 6.510.000, Hb : 11 gr., V.G. : 0,52.

R.G. incipiens : 5, terminale à 2,6.

Sidéroblastes : 30 %

Résumé.

5 observations de thalassémies :

- 1 cas de thalassémie majeure et 1 cas de thalassémie mineure sévère : taux très augmenté des sidéroblastes (100 % et 95 %) ;
- 3 cas de thalassémies mineures : taux normal des sidéroblastes, alors qu'il y a hypochromie.

LE SATURNISME

L'une des nombreuses manifestations dues à l'intoxication par le plomb consiste en une anémie qui est de type normochrome ou faiblement hypochrome chez l'adulte (la V.G. se situe entre 0,7 et 1) et de type franchement hypochrome chez l'enfant.

La pathogénie de cette anémie est une question très discutée :

— De nombreux auteurs (SMITH, REZNIKOF, FAIRHALL et AUB cités par J. BARON dans sa thèse) estiment que la part de l'hémolyse dans la constitution de cette anémie est très importante : les globules rouges exposés au plomb seraient extrêmement fragiles et peu résistants aux traumatismes circulatoires.

Cette théorie hémolytique a été fortement controversée sous divers prétextes, soit que les expérimentations sur lesquelles on s'est basé aient utilisé des doses de plomb bien supérieures à celles que l'on peut trouver dans l'organisme des saturnins, soit que les coproporphyrines découvertes en excès dans les urines des intoxiqués soient de type III, alors que seule la coproporphyrine I est symptomatique de l'hémolyse...

Quoiqu'il en soit, l'hémolyse a certainement un rôle à jouer dans la production de l'anémie du saturnisme, sans qu'elle ait pour cela l'exclusivité de ce phénomène.

— Selon d'autres (M. FLORIS, S. MUNTONI, A. CAU), il existerait un blocage de la moelle osseuse par le plomb, le myélogramme montrant de nombreuses cellules immatures dues à l'inhibition du parenchyme érythroblastique par le toxique.

— On pourrait se demander aussi si le plomb après lésion directe des cellules ne pourrait pas provoquer une altération de l'hémoglobine laquelle ferait alors apparaître le fer sous forme de grains ferriques à l'intérieur du cytoplasme ?

— Enfin, il existe une dernière hypothèse qui est celle d'un

trouble du métabolisme de l'hémoglobine consécutif à l'action du plomb. Ce trouble serait vraisemblablement dû à ce que le plomb empêche le fer de s'incorporer à la molécule de protoporphyrine (RIMINGTON, J.-E. KENCH, A.-E. GILLAM et R.-E. LANE, R. PIRRIE et DUSTIN cité par PIRRIE). D'autres auteurs ont prétendu au contraire que le plomb entravait la formation de la protoporphyrine à partir de la coproporphyrine (E.-H. FALCONER). Ceci semble peu plausible, car, dans le saturnisme, il y aurait une augmentation des protoporphyrines globulaires libres, ce qui prouve bien que celles-ci sont normalement synthétisées (VANNOTTI, HELMEYER et BEGEMANN cités par R. BILGER et K.H. TETZNER). Ce plomb exercerait son action au niveau des érythroblastes selon A.-J.-S. MAC FADZEAN et L.-J. DAVIS et les globules rouges défectueux résultant des érythroblastes ainsi lésés seraient ensuite retirés de la circulation par la rate. On voit donc que ces derniers auteurs admettent à la fois une part d'hémolyse et une part de dyshématopoïèse dans la production de l'anémie saturnine.

Nous avons appliqué la coloration au bleu de Prusse à de nombreux myélogrammes de saturnins. Les observations de sujets adultes atteints de saturnisme qui vont suivre montrent toutes une augmentation considérable du nombre des sidéroblastes ; leur chiffre se situe en général entre 90 % et 100 % et il est, en tout cas, supérieur à 80 %. Les études de E. KAPLAN, W. ZUELZER et C. MOURIQUAND sur le saturnisme infantile rapportaient aussi soit des pourcentages élevés, soit au moins normaux de sidéroblastes, alors qu'existait une hypochromie globulaire. La thèse de Mlle J. BARON faisait le point de la question. Le fer extracellulaire est lui aussi très augmenté (certaines granulations extracellulaires ressemblent aux « billes noires » décrites par P. MOREL à l'intérieur des macrophages dans des étalements de moelle osseuse colorées au May Grunwald Giemsa ; celles-ci prennent d'ailleurs le bleu de Prusse).

Cette surcharge de fer dans le myélogramme suggère bien que le fer n'est pas utilisé et évoque une perturbation dans la formation de l'hémoglobine. La coloration au bleu de Prusse semble donc un apport supplémentaire à l'hypothèse émise ci-dessus par d'autres auteurs.

Dans le domaine pratique cette fois, notre méthode peut-elle

avoir un intérêt ? La question avait déjà été posée dans la thèse de J. BARON ; on avait recherché un parallélisme entre les divers examens classiques employés pour le diagnostic du saturnisme et le taux des sidéroblastes. Voici en substance le résultat obtenu :

— numération et taux de l'hémoglobine : pas de parallélisme avec le taux des sidéroblastes ;

— hématies à granulations basophiles : pas de parallélisme non plus ;

— taux du fer sérique : parallélisme très fréquent, mais cependant approximatif ou inconstant dans quelques cas ;

— aspect cytologique de la moelle (1) : chez quinze sujets, deux étalements de moelle osseuse furent examinés, dont l'un après coloration au May Grunwald Giemsa, l'autre après coloration au bleu de Prusse. Dans 9 cas, les résultats concordaient, soit que le pourcentage des sidéroblastes fût normal et que la moelle ne présentât aucun signe de saturnisme, soit que des deux côtés les résultats fussent normaux. Dans 6 cas, il y eut discordance, mais, fait intéressant, dans deux de ces derniers cas, alors que la moelle était muette, il s'agissait pourtant d'intoxication saturnine chronique chez des sujets travaillant depuis longtemps au plomb. Seule une augmentation anormale des sidéroblastes à 90 et 95 % attirait l'attention sur une intoxication par le plomb.

En conclusion, la recherche du taux des sidéroblastes ne représente pas dans le cas du saturnisme un examen spécifique, mais elle peut être un appoint intéressant.

(1) L'aspect cytologique de la moelle dans le saturnisme a été bien étudié par P. MOREL ; ses caractéristiques sont les suivantes :

— d'une part, modifications quantitatives : plasmocytose modérée, éosinophilie, érythroblastose avec taux élevé ;

— d'autre part, modifications qualitatives : hématies à granulations basophiles identiques à celle du sang périphérique, érythroblastes à granulations, hématies vacuolaires à granulations, hyperplasie macrophagique et amas foncés et arrondis à l'intérieur de ces macrophages.

Observations (2).

— Meki B..., 22 ans.

Ce malade, qui est chargé de la surveillance d'un four à plomb, qui mange et fume pendant son travail, présente des douleurs diffuses dans les membres inférieurs et un liseré de Burton discret.

G.R. : 4.030.000, Hb : 73 %, V.G. : 0,91.

H.G.B. (hématies à granulations basophiles) : 6.400/1.000.000.

Sidéroblastes : 100 %

Fer extracellulaire : $\pm$.

— Abderrahaman A..., 26 ans.

Fait de la peinture au minium. Colique de plomb, liseré de Burton, goût métallique de la salive, azotémie transitoire. Recherche du plomb dans les urines : 400 gammas/mille.

G.R. : 3.910.000, Hb : 70 %, V.G. : 0,89, H.G.B. : 3.800/IM.

Sidéroblastes : 100 %

Fer extracellulaire : $++$.

— Cosentino D..., 42 ans.

Fourmillements dans les avant-bras, liseré de Burton, anémie saturnine.

G.R. : 3.670.000, Hb : 73 %, V.G. : 1,01, H.G.B. : 100/IM.

Sidéroblastes : 100 %

Fer extracellulaire : $++++$.

Fer sérique : 174 gammas.

— Antoine A..., 25 ans.

Asthénie, crampes, troubles gastriques, parésie du poignet droit.

G.R. : 4.620.000, Hb : 81 %, V.G. : 0,88, H.G.B. : 2.600/IM.

Sidéroblastes : 100 %

Fer extracellulaire : $\pm$.

— Douali D..., 9 ans.

Colique de plomb.

G.R. : 3.460.000, Hb : 62 %, V.G. : 0,91, H.G.B. : 3.200/IM.

Sidéroblastes : 100 %

(2) Tous les malades qui vont suivre ont été vus à la Consultation des Maladies Professionnelles (Professeur ROCHE).

— J. R..., 38 ans.

Colique de plomb et anémie saturnine.

G.R. : 3.700.000, Hb : 64 %, V.G. : 0,86, H.G.B. : 2.100/IM.

Sidéroblastes : 95 %

Fer extracellulaire : +++.

— Marguerite B..., 75 ans.

Intoxication saturnine d'origine hydrique, douleurs abdominales et constipation, anémie saturnine.

G.R. : 3.130.000., Hb : 60 %, V.G. : 0,95, H.G.B. : 156 pour cent G.B.

Sidéroblastes : 95 %

Fer extracellulaire : +++.

Fer sérique : 156 gammes.

— Léopold C...

Colique de plomb.

G.R. : 3.580.000, Hb : 68 %, V.G. : 0,97, H.G.B. : 4.500/IM.

Sidéroblastes : 95 %

Fer extracellulaire : +++.

— Jean-Marie V..., 67 ans.

Employé au cassage des scories de plomb, douleurs abdominales et constipation, faiblesse et paresthésie des membres inférieurs.

G.R. : 3.340.000, Hb : 67 %, V.G. : 0,99, H.G.B. : 100/IM.

Sidéroblastes : 90 %

Fer extracellulaire : +++.

Fer sérique : 260 gammas.

— Joseph M..., 29 ans.

Anémie saturnine, parésie des membres inférieurs.

G.R. : 3.430.000, Hb : 68 %, V.G. : 0,97, H.G.B. : 76 pour cent G.B.

Sidéroblastes : 85 %

Fer extracellulaire : +++.

— Vincent M..., 49 ans.

Colique de plomb, anémie saturnine, ulcus gastrique n'ayant pas saigné ; a présenté deux ans auparavant un liseré de Burton très net et a continué à travailler dans l'industrie du plomb.

G.R.: 3.910.000, Hb: 71 %, V.G.: 0,90, H.G.B.: 21 pour cent G.B.

Sidéroblastes : 80 %

Fer extracellulaire : $\pm$.

Fer sérique : 200 gammas.

— Guy R..., 46 ans.

Fondeur de plomb, examen clinique pratiquement négatif.

G.R.: 4.450.000, Hb: 91 %, V.G.: 1,03, H.G.B.: 18 pour cent G.B.

Sidéroblastes : 60 %

Fer extracellulaire : $\pm$

— Siali T..., 29 ans.

Ce sujet exposé au plomb a présenté une crise douloureuse abdominale, peut-être une colique de plomb.

G.R.: 4.720.000, Hb: 85 %, V.G.: 0,90, H.G.B.: 700/IM.

Sidéroblastes : 25 %

Fer extracellulaire : 0.

— Henri F..., 57 ans.

Ce malade est exposé au plomb depuis 10 ans. Il a présenté des douleurs abdominales et des névralgies cervicobrachiales. La recherche systématique des stigmates de saturnisme a été négative.

Sidéroblastes : 15 %

Fer extracellulaire : $\pm$

Il s'agit pour ces trois dernières observations de simples expositions au plomb et non d'intoxication véritable. Le taux des sidéroblastes est normal et même abaissé dans le dernier cas. Ceci semble en désaccord avec ce qui a été dit dans la thèse de J. BARON, à savoir que le taux des sidéroblastes semblait atteindre ses chiffres les plus forts non pour les intoxications, mais pour les simples imprégnations.

— François A..., 46 ans.

Saturnisme guéri.

G.R.: 4.000.000, Hb: 90 %, V.G.: 1.

Sidéroblastes : 65 %.

Fer extracellulaire : $+$.

Parallèlement à la guérison de ce saturnisme, le taux des sidéroblastes se trouve dans des limites normales.

— Paul V..., 61 ans.

Saturnisme, ulcère duodénal et hémorragies en rapport avec un paquet hémorroïdaire interne ulcéré.

G.R. : 2.440.000, Hb : 40 %, V.G. : 0,83, H.G.B. : 700/IM.

Sidéroblastes : 25 %

Fer extracellulaire : $\pm$

Résumé.

Nous avons réuni ci-dessus :

— 11 observations de saturnisme : pour toutes, le taux des sidéroblastes était très augmenté :

5 à 100 %,

3 à 95 %,

3 entre 80 % et 90 %.

— 3 observations d'expositions au plomb, dont 2 avaient un taux normal de sidéroblastes, et 1 un taux abaissé.

— 1 cas de saturnisme guéri : taux normal de sidéroblastes.

— 1 cas de saturnisme avec hémorragie externe : taux des sidéroblastes abaissé.

LES ANEMIES MEGALOBLASTIQUES

Nous avons groupé dans ce chapitre, à la fois des anémies de Biermer de l'adulte et des anémies mégaloblastiques du nourrisson, car les aspects médullaires sont semblables.

D'après les travaux récents (voir en particulier la thèse de SIMON (1955) à propos de l'anémie de Biermer) à la pathogénie de l'anémie de Biermer semble s'ajouter un trouble du métabolisme de l'hémoglobine : cette affection groupe en effet à la fois des signes de carence — anémie mégaloblastique, altérations ferriprives dans le myélogramme lesquelles ont été décrites par MM. REVOL et MOREL, contingent microcytaire de la courbe de Price-Jones — et des signes de surcharge tels que l'élévation du fer sérique qui est situé entre 70 et 300 gammas environ. Ce trouble est sans doute dû au fait que la coproporphyrine n'arrive pas à se convertir en protoporphyrine ; en effet, les dosages de protoporphyrine globulaire libre effectués par C.-J. WATSON montrent un important abaissement de celle-ci en même temps que des coproporphyrines sont excrétées en excès par les urines.

Un véritable blocage de la formation de l'hémoglobine semble dû à la carence en facteur antipernicieux, car la thérapeutique par ceux-ci, outre l'amélioration clinique et cytologique, fait remonter le taux des protoporphyrines globulaires libres (C.-J. WATSON). « Ceci prouve bien que Vitamine B12 et Acide Folique représentent des cofacteurs indispensables aux systèmes enzymatiques qui interviennent dans les biosynthèses des porphyrines » (BENARD ; A. GAJDOS et Mme GAJDOS-TOROK).

La coloration des myélogrammes d'anémies de Biermer par le bleu de Prusse nous semble apporter une contribution intéressante à l'appui de ces faits :

— les myélogrammes d'anémies de Biermer, comme ceux des anémies mégaloblastiques des nourrissons, montrent une surcharge très importante de fer : pratiquement tous les mégalo-

blastas contiennent de nombreux et volumineux grains ferriques. Il est intéressant de signaler que ces grains apparaissent au niveau des promégalo blastes et des mégalo blastes basophiles, c'est-à-dire à un stade où l'hémoglobinisation n'est pas encore commencée.

D'autre part, le fer extracellulaire est, lui aussi, très abondant; on le décèle facilement dès l'examen au faible grossissement.

Ces faits sont parallèles à l'élévation importante du fer sérique déjà signalée et ils illustrent de façon particulièrement nette la surcharge de l'organisme en fer. A cette surcharge pourrait contribuer aussi, soit un renouvellement anormalement actif du fer plasmatique chez les biernériens (R.-L. HUFF et collaborateurs), soit une libération de fer due à l'hémolyse intense des globules rouges fragiles dans cette affection (G. HEMMELER). Mais il semble s'agir en premier lieu d'une inutilisation du fer par blocage de la synthèse de l'hémoglobine au niveau des précurseurs des globules rouges.

— La thérapeutique par le facteur antipernicieux, en même temps qu'elle normalise les autres valeurs, fait diminuer la sidéroblastose, donc permet l'utilisation du fer : cette baisse est aussi bien qualitative que quantitative ; les sidéroblastes sont moins nombreux, les granulations sont moins volumineuses ; le fer extracellulaire s'abaisse. Cette déplétion des réserves peut atteindre une telle intensité que l'on voit alors le pourcentage des sidéroblastes descendre au-dessous de sa valeur normale jusque dans les zones de la ferriprive ; l'érythropoïèse et l'hémoglobino poïèse normales ont repris et il en résulte une consommation accrue de fer, qui nécessitera d'ailleurs d'adjoindre au traitement antipernicieux une thérapeutique martiale. (On sait que le taux du fer sérique subit, lui aussi, une baisse considérable sous l'effet de la thérapeutique.)

— Il est particulièrement intéressant de suivre cette déplétion progressive des réserves par des myélogrammes répétés colorés au bleu de Prusse ; on peut ainsi juger directement de l'efficacité de la thérapeutique et surtout saisir avec précision le moment où l'organisme à court de fer, aura besoin de l'aide de la thérapeutique martiale.

Tout ce que nous venons de dire est valable aussi pour les anémies mégalo blastiques du nourrisson : les images sont sembla-

bles et les effets de la thérapeutique identiques sur le taux des sidéroblastes.

Observations.

1° Deux myélogrammes d'ANÉMIE DE BIERMER colorés par le bleu de Prusse ont donné les résultats suivants :

— M. Chi...

Sidéroblastes : 80 %

Fer extracellulaire : ++++.

— M. Cha...

Sidéroblastes : 75 %

Fer extracellulaire : ++++.

2° ANÉMIES DE BIERMER TRAITÉES¹ : taux élevé des sidéroblastes ramené à la normale par la thérapeutique :

— Antoinette B..., 54 ans.

Avant traitement : G.R. : 2.400.000, Hb : 67 %, V.G. : 1,42.

Fer sérique : 169 gammas.

Sidéroblastes : 100 %

Fer extracellulaire : +++.

15 jours après une injection de 100 gammas de vitamine B12 :

G.R. : 3.370.000, Hb : 81 %, V.G. : 1,2.

Fer sérique : 45 gammas

Sidéroblastes : 20 %

Fer extracellulaire très diminué.

— Mme A...

Avant traitement : G.R. : 1.290.000, Hb : 31 %, V.G. : 1,3.

Fer sérique : 117 gammas.

Sidéroblastes : 95 %

Fer extracellulaire : ++++.

12 jours après une injection de vitamine B12 :

G.R. : 3.030.000, Hb : 60 %, V.G. : 1.

Fer sérique : 65 gammas.

Sidéroblastes : 40 %

Fer extracellulaire : ±

— Louis S..., 71 ans (observation due à l'obligeance de M. le Professeur LEVRAT).

Avant traitement : G.R. : 1.550.000, Hb : 34 %, V.G. : 1,09.

Fer sérique : 217 gammas.

Sidéroblastes : 95 %

Fer extracellulaire : ++++.

15 jours après une injection de 100 gammas de vitamine B12 :

G.R. : 2.765.000, Hb : 58 %, V.G. : 1,04.

Sidéroblastes : 80 %

Fer extracellulaire : ±

— Mme Pe..., 64 ans.

Avant traitement : G.R. : 1.400.000, Hb : 28 %, V.G. : 1.

Sidéroblastes : 95 %

Fer extracellulaire : ++++.

Après 10 jours de traitement par la vitamine B12 (2.000 gammas) :

G.R. : 3.490.000, Hb : 57 %, V.G. : 0,81.

Sidéroblastes : 5 %

Fer extracellulaire : +++.

3° ANÉMIES MÉGALOBLASTIQUES DU NOURRISSON TRAITÉES :

— Denis N..., 10 mois, anémie mégaloblastique d'origine nutritionnelle.

Avant traitement : G.R. : 1.890.000, Hb : 55 %, V.G. : 1,45.

Sidéroblastes : 95 %

Fer extracellulaire : ++.

Après 6 jours de traitement par l'acide folique à raison de 5 mg./jour :

Sidéroblastes : 25 %

Après 10 jours de traitement :

G.R. : 3.140.000, Hb : 67 %, V.G. : 1,09.

Sidéroblastes : 5 %

— Edouard C..., 16 mois (observation due à l'obligeance de M. le Docteur JEUNE). Anémie mégaloblastique d'origine nutritionnelle.

Avant traitement : G.R. : 1.950.000, Hb : 25 %, V.G. : 1,31.

Sidéroblastes : 100 %

Fer extracellulaire : +++.

Après 14 jours de traitement par l'acide folique et une perfusion de 300 cc. de sang :

G.R. : 3.000.000, Hb : 69 %, V.G. : 1,10.

Sidéroblastes : 10 %

Fer extracellulaire : 0.

Résumé.

Nous avons présenté ci-dessus 8 observations d'anémies mégaloblastiques, dont 6 anémies de Biermer et 2 anémies mégaloblastiques du nourrisson d'origine nutritionnelle.

Le taux des sidéroblastes était toujours très élevé :

2 à 100 %,

4 à 95 %,

2 à 75 et 80 %.

La recherche des sidéroblastes effectuée après traitement dans 6 de ces cas a permis d'enregistrer une baisse des sidéroblastes dans les limites de la normale et même au-dessous pour 3 d'entre elles.

AFFECTIONS HEPATIQUES

Cirrroses.

Nous avons eu l'occasion d'examiner les moelles de quelques cirrroses. Nous nous contenterons d'exposer ici nos résultats, le nombre insuffisant de nos observations ne permettant encore aucun commentaire. Signalons surtout que celles que nous présentons ont une macrocytose.

Dans ces cirrroses, nous avons remarqué une augmentation anormale du nombre des sidéroblastes et une accumulation manifeste du fer extracellulaire.

Nous ne possédons pas les taux du fer sérique. D'après G. HEMMELER, il est ou normal ou légèrement augmenté, atteignant en moyenne 200 gammas.

Observations.

— Mme Ch..., cirrhose éthylique, ictère.

G.R. : 2.750.000, Hb : 68 %, V.G. : 1,25.

Volume moyen : 120 microns cubes.

Sidéroblastes : 95 %

Fer extracellulaire : +++.

— Mme P..., cirrhose éthylique, ictère.

G.R. : 2.900.000, Hb : 64 %, V.G. : 1,12.

Diamètre moyen : 7,7 microns.

Sidéroblastes : 85 %

Fer extracellulaire : ++.

— G..., cirrhose éthylique.

G.R. : 3.200.000, Hb : 12,32, V.G. : 1,2.

Volume moyen : 112 microns cubes.

Sidéroblastes : 95 %

Fer extracellulaire : +++.

— Po..., cirrhose éthylique.

G.R. : 3.250.000, Hb : 11,52, V.G. : 1,1.

Volume moyen : 112 microns cubes.

Sidéroblastes : 95 %

Fer extracellulaire : +++.

— L..., cirrhose éthylique.

G.R. : 3.880.000.

Diamètre moyen : 7,7 microns.

Sidéroblastes : 80 %

Fer extracellulaire : +++.

— Marie-Louise B..., 57 ans, cirrhose avec ictère et ascite :
origine éthylique.

G.R. : 3.750.000, Hb : 82 %, V.G. : 1,1.

Volume moyen : 106 microns cubes.

Sidéroblastes : 100 %

Fer extracellulaire : +++.

— Henri Ch..., 50 ans, éthyliste chronique, cirrhose.

G.R. : 4.270.000, Hb : 100 %.

Sidéroblastes : 100 %

Fer extracellulaire : +++.

— M..., 43 ans, cirrhose éthylique avec ascite.

G.R. : 3.490.000, V.G. : 1,05.

Sidéroblastes : 95 %

Fer extracellulaire : ++++.

— Sylvie M... (nourrisson), cirrhose biliaire par atésie congé-
nitale des voies biliaires.

G.R. : 3.350.000, Hb : 70 %, V.G. : 1,04.

Sidéroblastes : 90 %

Fer extracellulaire : 0.

Ictère infectieux bénin.

— Angèle F...

G.R. : 4.270.000, Hb : 13,28, V.G. : 1.

Sidéroblastes : 90 %

Fer sérique : 300 gammas.

Résumé.

9 observations de cirrhose dont 8 cirrhoses éthyliques et 1 cirrhose par atrésie congénitale des voies biliaires : taux des sidéroblastes entre 80 % et 100 %, donc très augmenté.

1 cas d'ictère infectieux bénin : taux des sidéroblastes à 90 %.

L'HEMOCHROMATOSE

Dans cette affection où la majorité des organes sont envahis par le fer, il n'est pas étonnant que la moelle osseuse participe au processus de surcharge. Selon G. HEMMELER pourtant, la rate et la moelle osseuse possèderaient relativement peu de dépôts de fer sous forme d'hémosidérine.

La coloration au bleu de Prusse, elle, nous révèle d'abondants dépôts de fer, que ce soit sous forme de sidéroblastes ou de fer extracellulaire.

Parallèlement à l'augmentation du fer intramédullaire, le taux du fer sérique est, comme de nombreux auteurs l'ont confirmé, anormalement élevé ou à la limite supérieure de la normale.

Nous ne possédons malheureusement qu'une observation de ce genre due à l'obligeance de M. le Professeur LEVRAT.

— Adrien M..., 44 ans. Ce malade présentait une cirrhose pigmentaire accompagnée de pigmentation cutanée, de troubles cardiaques sous forme d'extrasystoles. Au point de vue biologique, de petits signes d'insuffisance hépatique.

G.R. : 4.480.000, Hb : 87 %, V.G. : 0,97.

Sidéroblastes : 100 %

Fer extracellulaire : ++++.

Fer sérique : 198 gammas.

LES ANEMIES HEMOLYTIQUES

Nous possédons personnellement peu de documents sur les anémies hémolytiques, en ce qui concerne la coloration au bleu de Prusse. Cependant la question a été étudiée par divers auteurs :

Rappelons le travail de A.-J.-S. MAC FADZEAN et L.-J. DAVIS en 1947. En 1954, E. KAPLAN, W. ZUELZER et C. MOURIQUAND examinèrent les sidéroblastes de 30 anémies hémolytiques chez l'enfant :

Il s'agissait de différents types d'hémolyse, les unes aiguës, les autres chroniques : maladies hémolytiques du nouveau-né, intoxication par la naphthaline parmi les aiguës, sphérocytose congénitale, drépanocytose classique ou à hémoglobine C et un certain nombre d'anémies congénitales atypiques parmi les secondes. Ces auteurs sont arrivés aux conclusions suivantes :

Le chiffre des sidéroblastes dans les anémies hémolytiques se situe dans les limites de la normale, mais le plus souvent dans les valeurs élevées de la normale.

La taille et l'intensité de coloration des granulations de fer sont certainement plus importantes que dans le groupe normal.

Enfin, il n'y a pas de différence notable entre les moelles d'anémies hémolytiques aiguës et les moelles d'anémies hémolytiques chroniques.

A.-J.-S. MAC FADZEAN et L.-J. DAVIS signalent quelques points particuliers :

Certains cas de drépanocytose C avec anémie hémolytique bénigne présentaient des moelles normales.

Dans quelques cas d'anémies hémolytiques sévères, les granulations étaient petites et seulement discrètement colorables.

DISCUSSION ET INTERPRETATION

La coloration de la moelle osseuse normale par le bleu de Prusse révèle dans le cytoplasme d'un certain nombre d'érythroblastes des granulations qui contiennent du fer.

— *La spécificité de la méthode au Bleu de Prusse* pour la détection du fer a été bien démontrée. Elle est connue et employée depuis longtemps en histologie. LISON, GOMORI et BUNTING, après de nombreuses études et expérimentations, la considèrent même comme le meilleur moyen de détection du fer dans les tissus.

Elle met en évidence les sels ferriques grâce à la combinaison de ceux-ci avec le ferrocyanure du réactif ; il s'en suit la formation d'un ferriferrocyanure.

— C'est non seulement une méthode spécifique, mais une méthode précise :

— « L'utilisation simultanée plutôt que consécutive de l'acide chlorhydrique et du ferrocyanure est particulièrement satisfaisante car, par cette technique, le fer est précipité par le ferrocyanure aussitôt qu'il est dissous par l'acide dans son dépôt originel. » (BUNTING, 1949). C'est grâce à cette manière de procéder qu'une réaction maxima est obtenue.

— LISON signale de plus que la réaction est particulièrement sensible : le Bleu de Prusse serait capable de détecter jusqu'à 0,002 gammas de fer.

— Enfin, si elle décèle avec finesse la moindre présence de fer, par contre, elle n'exagère pas la taille des particules de celui-ci, comme le font certaines autres réactions (GOMORI) et elle évite la diffusion trop grande du fer sur la préparation.

Les autres méthodes de détection du fer sont extrêmement nombreuses, mais aucune n'allie toutes les qualités que nous venons de signaler :

La méthode au bleu de Turnbull ou la réaction de Tirman et Schmeltzer (réaction de Turnbull modifiée) provoquent une exagération des particules du fer ; d'autre part, elles sont beaucoup moins sensibles.

Nous n'avons pas l'expérience des laques colorées : mais, d'après LISON, la méthode de MACCALUM et MALLORY à l'hématoxyline, si elle est sensible, n'est cependant pas spécifique et doit être utilisée avec des conditions de contrôle particulièrement sévères. Quant à la méthode de HUMPHREY au dinitrorésorcinol, elle est moins sensible que la précédente, et la coloration de fond brune qu'elle produit, masque les dépôts de fer de petite taille.

La méthode au sulfate d'ammonium introduite par QUINCKE en 1868 utilise un réactif qui ne contient pas de fer ; elle est spécifique, mais ne détecte pas les toutes petites quantités de fer, car la coloration résultante brun jaunâtre est difficile à reconnaître, même si l'on compare avec des témoins non colorés.

Enfin, nous avons essayé la méthode à l'*aa*'dipyridyl et au thiocyanate de potassium préconisée par R.-A.-M. CASE, mais nous n'avons eu que des échecs.

Pour toutes ces raisons, la méthode de PERLS paraît la meilleure pour la détection du fer, à condition, bien entendu, de respecter scrupuleusement les indications données par LISON en ce qui concerne la concentration des solutions, la durée des bains, et, en particulier, la méthode d'acidification.

Si la méthode au Bleu de Prusse colore avec précision le fer, elle peut tout aussi bien colorer du fer étranger à la préparation.

Pour éviter toute contamination extrinsèque, nous avons, au début, pris toutes les précautions de manipulations nécessaires : les ponctions médullaires ont été effectuées avec des trocars en nickel et des seringues sans fer ; pour le traitement ultérieur de l'étalement, nous nous sommes servis de lames et de verreries sans fer, de même que l'eau utilisée pour la coloration et les lavages. Or, nous n'avons remarqué aucune différence entre les préparations où aucune précaution n'avait été prise et celles où, par contre, nous avons respecté toutes ces indications.

Nous avons donc par la suite abandonné toutes ces précautions.

Cependant, nous effectuons un contrôle de la façon suivante : nous mettons dans le même bain de ferrocyanure des moelles d'anémie ferriprive connues et des étalements de moelle à étudier ; les moelles d'anémies ferriprives permettraient ainsi de déceler les artefacts s'il devait s'en produire. Nous avons, en particulier, mis dans le même bain au cours de ces colorations en même temps que des moelles ferriprives de contrôle des moelles surchargées en fer, et nous n'avons jamais remarqué de pollution des premières par les secondes.

Sous quelle forme chimique se trouve le fer détecté par la coloration au Bleu de Prusse ?

LILLIE (cité par BUNTING) avait avancé en 1948 que le fer de l'hémoglobine altéré par un acide peut parfois être colorable par les procédés usuels de coloration du fer. Mais la technique au Bleu de Prusse ne colore pas le fer hémoglobinique, même après hydrolyse (BUNTING). Nous pouvons donc, déjà de ce côté, éliminer toute hypothèse : le fer intraérythroblastique n'est pas un fer hémoglobinique.

Le fer est déposé dans la moelle osseuse en partie sous forme d'hémosidérine. Mais PAPPENHEIMER et d'autres ont pensé que l'identification à l'hémosidérine était impossible. D'ailleurs l'hémosidérine est visible sur des préparations non colorées, sous forme de dépôts jaunes d'or, ce qui n'est pas le cas pour les granulations intraérythroblastiques que nous avons décrites et que seule une coloration spécifique peut mettre en évidence.

Le fer est aussi stocké dans la moelle sous forme de ferritine ; cette dernière n'est pas mise en évidence par les colorants habituels du fer et en particulier, pas par le Bleu de Prusse, sauf, semble-t-il, si elle se trouve sous une concentration importante ; dans ce cas, elle se révèle à l'intérieur des cellules par une teinte bleuâtre diffuse et jamais sous une forme figurée (C.-A. FINCH, R.-D. SUNDBERG). Quoi qu'il en soit, les essais tentés pour identifier la ferritine aux grains des érythroblastes ont échoué.

Une dernière hypothèse a été faite, c'est celle d'une combinaison fer-porphyrine. A.-J.-S. MAC FADZEAN et L.-J. DAVIS ont repoussé cette possibilité, en montrant que les granulations

de fer des érythroblastes ne donnaient pas de fluorescence en lumière de Wood.

En conclusion, on voit que toutes les investigations pour découvrir la nature chimique du fer intraérythroblastique mis en évidence par le Bleu de Prusse se sont révélées vaines jusqu'à maintenant. Tout ce que l'on peut affirmer à l'heure actuelle, c'est qu'il s'agit d'un fer non hémoglobinique et qu'il s'agit de fer ferrique, puisqu'il est coloré par le Bleu de Prusse. Personnellement, nous croyons qu'il est difficile de ne pas l'assimiler à l'hémosidérine.

Peut-on, en l'état actuel de nos connaissances, risquer de rechercher la *signification du fer intraérythroblastique* ?

La présence de grains de fer dans les précurseurs des globules rouges est un phénomène normal ; en effet, on les trouve dans toutes les moelles normales : dans une moelle osseuse saine, 25 % à 85 % des érythroblastes sont des sidéroblastes.

J.-V. DACIE et J.-C. WHITE, en 1949, furent les premiers à avancer que ces granulations représentaient peut-être un stade normal de l'utilisation du fer par les normoblastes.

Mais, ce n'est pas l'opinion de tous les auteurs : A.-J.-S. FADZEAN et L.-J. DAVIS, en particulier, pensent que les grains de fer sont produits par des mécanismes anormaux du catabolisme de l'hémoglobine à l'occasion de manifestations hémolytiques. En effet, ils n'ont trouvé des sidéroblastes que dans certaines anémies hémolytiques acquises et dans les intoxications par le plomb ; il existe là une discordance inexplicable avec les autres travaux employant la coloration au Bleu de Prusse.

I. DONIACH et ses collaborateurs voient dans la production de ces grains le résultat d'un trouble du métabolisme de l'hémoglobine.

R.-A. CASE, après diverses expériences in vitro, conclut que ces granulations sont un signe de vieillissement des cellules, et que le fer provient, sans doute, de la désintégration in vivo de l'hémoglobine avec libération du fer.

R. BILGER et K.-H. TETZNER attaquent la position de CASE, en disant que ces grains ne peuvent pas représenter un élément de vieillissement cellulaire, puisqu'on les rencontre dans des cellules éminemment jeunes comme les normoblastes de

la moelle osseuse. Ces auteurs pensent à un trouble du métabolisme de l'hémoglobine.

Il est possible que dans certains cas bien spéciaux (anémie hémolytique d'origine toxique, ou saturnisme), des toxiques lésant la cellule il s'en suive une altération de l'hémoglobine, et que, par conséquent, le fer ainsi libéré apparaisse dans le cytoplasme sous forme de granulations colorables par le Bleu de Prusse.

Mais, ce sont là des exceptions, et la présence de fer intra-érythroblastique reste dans la généralité des cas un phénomène absolument normal.

Il est probable que le fer intraérythroblastique n'objective qu'une des multiples étapes du métabolisme du fer, qui se succédant à partir de l'introduction de celui-ci dans l'organisme aboutissent finalement à la formation de l'hémoglobine.

Le fer provenant de l'alimentation ou de la destruction des hématies est absorbé sous forme de fer bivalent essentiellement au niveau du duodénum et du jéjunum. Après avoir traversé la muqueuse intestinale, combiné à la sidérophiline plasmatique, il suit la voie sanguine ; c'est, en effet, par l'intermédiaire du sérum que le fer passe du tube digestif aux organes de dépôt et des organes de dépôt à la moelle osseuse, où il sera utilisé à la synthèse de l'hémoglobine. Le taux du fer sérique nous renseigne donc sur le degré de saturation en fer de l'organisme ; on peut le considérer comme un reflet fidèle du fer disponible pour la synthèse de l'hémoglobine.

Or, nous avons remarqué au cours de cette étude, que le taux des sidéroblastes suit toutes les fluctuations du fer sérique : dans les anémies ferriprives, les valeurs abaissées du fer sérique sont accompagnées d'un taux de sidéroblastes très abaissé ou même nul ; inversement, des anémies à fer sérique normal ou augmenté ont des sidéroblastes en nombre élevé. Quand, dans une anémie ferriprive, on administre du fer au malade, le taux des sidéroblastes se relève comme celui du fer sérique.

Une telle relation entre ces deux valeurs pourrait signifier que le fer des sidéroblastes dépend étroitement des disponibilités des réserves. Cette hypothèse est plausible, car il existe des rapports certains entre le pourcentage des sidéroblastes et la teneur du milieu en fer. E. KAPLAN, W. ZUELZER et C. MOURIQUAND l'ont montré par leurs expériences de cultures de

moelles : « Un fragment de moelle osseuse ferriprive étant divisé en deux parties, la première partie est laissée dans son propre plasma sans aucune addition ; la seconde est placée dans le plasma après adjonction d'une goutte de solution de saccharate de fer. Dans le premier cas, on voit progressivement augmenter les sidéroblastes jusqu'à un pourcentage de 20 % — sans doute le fer libéré par la destruction des hématies a-t-il été employé par les érythroblastes — ; dans le deuxième cas, l'augmentation des sidéroblastes se fait régulièrement pour atteindre au cinquième jour 80 % ».

Si la présence du fer intraérythroblastique paraît liée aux disponibilités des réserves, elle semble, par ailleurs, en rapport avec la synthèse de l'hémoglobine. En effet :

— Ce fer est présent à tous les stades où la synthèse de l'hémoglobine est active : au stade polychromatophile, plus tard encore au stade orthochromatique ; dans les réticulocytes, on peut également les observer ; or, dans ces cellules, l'hémoglobininisation n'est pas terminée.

— Quand les grains de fer sont absents des érythroblastes, il y a toujours en même temps une hypochromie.

— Quand on administre du fer, la hausse de l'hémoglobine ne se produit qu'après l'apparition ou l'augmentation nette du fer contenu dans les érythroblastes, ce qui suggère bien que celui-ci sert à la constitution de l'hémoglobine.

— Quand l'hémoglobininisation est terminée, c'est-à-dire quand l'hématie est mûre et lancée dans la circulation périphérique, on ne peut plus dans les cas normaux déceler de semblables granulations. Le cas du réticulocyte est particulier, puisque dans celui-ci, l'hématopoïèse n'est pas achevée.

La présence du fer intraérythroblastique semble donc indispensable pour que l'hémoglobinoïèse s'effectue normalement. Les granulations se comportent comme des réserves intracellulaires de fer, dans lesquelles l'organisme va puiser les matériaux nécessaires à la construction de l'hémoglobine.

S'il en est ainsi, la coloration au Bleu de Prusse permet donc d'assister à une nouvelle et ultime phase du métabolisme du fer, juste avant l'incorporation de celui-ci dans la molécule de protoporphyrine.

Cependant, la présence des granulations de fer, si elle sem-

ble dès lors une condition indispensable de la formation normale de l'hémoglobine, n'est pas suffisante pour l'accomplissement de celle-ci.

Nous avons vu, en effet, que dans les cas de la thalassémie, de la maladie de Biermer, du saturnisme, les granulations de fer, loin d'être en quantité insuffisante, s'accumulaient au contraire dans l'érythroblaste. Il faut donc, avant tout, que les mécanismes qui président à la synthèse des porphyrines se déroulent de façon parfaitement normale ; une perturbation de celle-ci se manifeste par des répercussions sanguines telles que l'hypochromie ou la présence d'érythroblastes ferriprives dans la moelle. Ce n'est que lorsque ce mécanisme s'est effectué correctement que le fer peut effectivement être utilisé à la formation de la molécule d'hémoglobine.

Quel est le devenir de ce fer intraérythroblastique ?

Puisque ce fer paraît utilisé à la synthèse de l'hémoglobine, on pourrait s'attendre à ce qu'il disparaisse progressivement au fur et à mesure que celle-ci se parachève.

Cependant, les granulations sont au moins aussi nombreuses au stade orthochromatique qu'au stade polychromatophile ; logiquement, les réserves intracellulaires de fer devraient s'épuiser au fur et à mesure que l'on se rapproche de l'hémoglobinisation complète de l'érythroblaste. Peut-être, les cellules continuent-elles à se charger de fer, tant que durent les processus d'hémoglobinisation ? C'est un problème qui n'est pas encore résolu (1).

Si ces granulations sont nombreuses aux stades terminaux de l'hémoglobinisation, elles sont par contre, totalement absentes des globules rouges mûrs (tout au moins dans les cas non pathologiques). Cette brutale disparition des grains de fer d'une cellule, qui auparavant en était encore richement pourvue, est aussi un fait inexplicable. Nous avons eu l'occasion

(1) On peut se demander à ce sujet, si la coloration de fond utilisée permet de faire avec précision la distinction entre les stades polychromatophile et orthochromatique. On ne se base pour déterminer l'âge approximatif du normoblaste que sur l'aspect du noyau. Il faudrait une coloration permettant de différencier plus nettement les stades. Nous avons essayé la méthode de PAPANICOLAOU, mais elle m'a donné des résultats que pour les moelles où les sidéroblastes étaient très augmentés. Peut-être, faut-il voir là l'intervention du colorant acide qui a dissous une partie du fer colorable, et en fait, la totalité dans les moelles faiblement pourvues en fer.

d'observer certaines images qui pourraient peut-être expliquer la disparition brusque du fer intracellulaire : il s'agissait de grains accolés à la cellule, mais à son extérieur, comme s'ils étaient expulsés hors de celle-ci. Malheureusement, nous n'avons rencontré cette image que trop rarement pour en faire état.

Le problème des rapports entre les sidéroblastes et les sidérocytes reste très obscur.

En principe, à l'état normal, les grains de fer sont absents des globules rouges mûrs ; en pratique, le taux des sidérocytes est situé au-dessous de 1 %.

Cependant, dans certains cas pathologiques, tels que dans certaines anémies hémolytiques ou dans le saturnisme, ou dans la maladie de Biermer, on voit apparaître dans le sang périphérique des globules rouges contenant des granulations de fer : les sidérocytes.

A.-S. DOUGLAS et J.-V. DACIE se sont déjà intéressés à la question. De leurs travaux, il découle que toute cellule porteuse de granulations sidérophiles est probablement un réticulocyte. Si ces éléments sont plus nombreux dans la moelle normale, c'est simplement parce que les réticulocytes sont plus nombreux en cet endroit que dans le sang périphérique. Ils ajoutent que « la sidérocytose est donc un signe d'immaturité de la cellule et que l'absence complète ou presque de ces sidérocytes dans le sang périphérique, dans les cas normaux, est due à la continuation du métabolisme à l'intérieur de la cellule, métabolisme dont le résultat est la disparition progressive du fer au fur et à mesure que la cellule mûrit. Normalement, ce processus semble à peu près achevé au moment où la cellule est arrivée au stade réticulocytaire ».

Ils font remarquer en outre que les cas pathologiques, comme les anémies hémolytiques, où l'on a trouvé le plus grand nombre de sidérocytes, sont justement ceux où il y a une réticulocytose importante avec apparition de cellules immatures dans la circulation.

Donc, pour eux, il semble que les sidérocytes représentent des éléments immatures, dont l'hémoglobinisation n'est pas terminée et qui restent normalement cantonnés dans la moelle jusqu'à maturation complète.

Si, donc, dans certains cas, le sidérocyte peut avoir la signi-

fication du réticulocyte — et de ce fait, ses granulations de fer ont la même signification que dans le sidéroblaste — il semble qu'il n'en soit pas toujours ainsi ; en particulier, dans certaines anémies, intoxications qui lèsent les hématies ou attaquent l'hémoglobine elle-même, il se peut que le fer soit libéré et apparaisse alors sous forme de grains ferriques, quand on colore par le Bleu de Prusse. Ce serait le cas, par exemple, de saturnisme ou des anémies hémolytiques aiguës provoquées par la naphthaline. Nous avons déjà évoqué ce mécanisme, à propos des sidéroblastes, dans notre chapitre concernant le saturnisme.

Enfin, de nombreux travaux (A.-J.-S. MAC FADZEAN et L.-J. DAVIS, R. PIRRIE, R. BILGER et K.-H. TETZNER) suggèrent que la rate a un rôle important à jouer dans l'apparition ou la disparition des sidérocytes du sang périphérique. En effet, si l'on pratique une splénectomie sur des cobayes intoxiqués par le plomb, on remarque une augmentation considérable des sidérocytes déjà présents dans le sang. Ce fait incline à penser que ces sidérocytes étaient soustraits de la circulation par la rate, quand celle-ci était en fonctionnement. (Par contre, la splénectomie ne semble, en aucun cas, avoir eu de répercussions sur le taux des cellules à granulations ferriques de la moelle osseuse). Si la rate est susceptible de supprimer les sidérocytes dans les cas pathologiques, tout au moins en partie, on peut se demander si ce n'est pas ce qui se passe dans les cas normaux, puisque aucun de ces éléments ne fait habituellement son apparition dans le sang de la périphérie ?

A.-S. DOUGLAS et J.-V. DACIE critiquent fortement cette façon de penser : « Plus de 50 % des érythroblastes de la moelle osseuse contiennent des grains de fer à un moment déterminé ; il semble impossible que les érythrocytes naissant de ces cellules soient supprimés en un laps de temps si court, que l'on n'ait même pas l'occasion d'en voir apparaître quelques-uns dans la circulation ».

D'autre part, l'examen de frottis de rate ne montrerait pas des sidérocytes en quantité considérable, comme on pourrait s'y attendre, si la rate les enlevait vraiment de la circulation. DOUGLAS et DACIE réservent ce mécanisme uniquement pour les cas où les cellules sont très anormales et possèdent de volumineux grains de fer.

Ils pensent cependant que la rate n'est pas totalement étrangère aux mécanismes qui régissent la durée de vie et la disparition des sidérocytes : il est possible qu'elle accélère la vitesse avec laquelle le fer poursuit son métabolisme dans le sidérocyte ; la splénectomie supprimant cette action, laissant persister plus longtemps le fer, prolongerait en quelque sorte la vie du sidérocyte et l'on aurait alors l'occasion de voir apparaître celui-ci dans la circulation. Il est possible que ce mécanisme soit identique à celui qui préside à l'apparition, après splénectomie, de substances nucléaires comme les corps de Howell-Jolly.

Toutes ces théories ne sont encore actuellement que des hypothèses et les rapports entre les sidérocytes et les sidéroblastes méritent d'autres recherches. Tout ce que l'on peut avancer, c'est que la présence des sidérocytes dans le sang périphérique représente un phénomène pathologique, alors que les sidéroblastes sont, au contraire, dans la moelle osseuse, un fait non seulement normal et physiologique, mais indispensable à la constitution de l'hémoglobine.

CONCLUSIONS

La méthode au Bleu de Prusse appliquée au myélogramme permet de déceler dans les précurseurs des globules rouges des granulations de fer. La présence de ce fer est absolument normale ; elle est en rapport avec la formation de l'hémoglobine. Cette méthode permet donc d'avoir une vue directe sur une phase ultime du métabolisme du fer, juste avant son incorporation dans la molécule de protoporphyrine.

D'autre part, l'application de ce procédé à diverses affections hématologiques a permis de saisir les variations quantitatives de ces granulations et, par là, se montre une contribution intéressante à l'étude de la pathogénie de ces troubles.

De nombreuses inconnues subsistent, mais la méthode est, pour le clinicien, d'un réel intérêt pratique, sur le plan diagnostique et thérapeutique.

La réalisation de la coloration est d'une extrême simplicité ; quant à la lecture des lames, elle exige une certaine entraînement, mais qu'il n'est pas difficile d'acquérir.

Cet examen mérite de rentrer dans la pratique courante, à côté d'autres examens éprouvés. Il est possible, de plus, que son utilisation se révèle, par la suite, intéressante, pour d'autres affections que celles que nous avons décrites.

Vu :
Le Doyen,
HERMANN.

Vu :
Le Président de la Thèse,
BERNHEIM.

Vu et permis d'imprimer :

Lyon, le 12 Octobre 1955.

LE RECTEUR, PRÉSIDENT DU CONSEIL DE L'UNIVERSITÉ,
A. ALLIX.

BIBLIOGRAPHIE

- BARON J. — Etude hématologique du saturnisme. *Thèse*, Lyon, 1954.
- BERNHEIM M., MONNET P., MOURIQUAND C. et LANTERNIER J. — Les divers aspects de la thalassémie. *Pédiatrie*, 9, 439, 1954.
- BERNHEIM M. et MOURIQUAND C. — Intérêt de l'étude des granulations de fer intracytoplasmique dans la série intraérythroblastique au cours de diverses anémies de l'enfance. *Archives Françaises de Pédiatrie*, 11, 917, 1954.
- BILGER et TETZNER K.-H. — A propos des corpuscules incorporés dans les cellules du système érythropoïétique. *Acta Hematolog.*, 9, 937, 1954.
- BUNTING H. — Détection histochimique du fer dans les tissus.
- CASE R.-A.-M. — Siderocytes in hemolytic diseases : a new index of severity and prognosis. *J. Patholog. and Bacteriol.*, 57, 271, 1945.
- DACIE J.-V. et DONIACH I. — Basophilic property of iron containing granules in siderocytes. *J. Path. and Bact.*, 59, 684, 1947.
- DACIE J.-V. et WHITE J.-C. — Erythropoiesis with particular reference to its study by biopsy of human bone marrow. *J. Clinic. Path.*, 2, 1, 1949.
- DONIACH I., GRUNEBERG H. et PEARSON J.-E.-G. — The occurrence of siderocytes in adult human blood. *Journal Path. et Bactér.*, 55, 23, 1943.
- DOUGLAS A.-S. et DACIÉ J.-V. — The incidence and signification of iron containing in human erythrocytes and their precursors. *J. Cl. Path.*, 6, 307, 1953.
- FALCONER E.-H. — Signification de la ponctuation basophile des érythrocytes dans l'absorption du plomb.
- FINCH C.-A., HEGSTED M., KINNEY T.-D., THOMAS E.-D., RATH HASKINS D., FINCH S, FLUHARTY R.-G. — Iron metabolism. The physiopathology of iron storage. *Blood*, 5, 943, 1950.
- FLORIS M., MUNTONI S., CAU A. — Au sujet des anémies saturnines. — *Rase. Med. Ind.*, 1952, 21, 33.
- GAJDOS A. — Physiopathologie de la protoporphyrurie globulaire libre. *Revue d'Hématologie*, 6, 184, 1951.
- GOMORI G. — Microtechnical demonstration of iron : a criticism of its method. *The American J. of Patholog.*, XII, 655, 1936.
- GRUNEBERG H. — Siderocytes : a new kind of erythrocyte. *Nature*, 148, 114, 1941.

- HEMMELE G. — Métabolisme du fer. Masson et Cie, édition 1951.
- HUFF R.-L., HENNESSY T.-G., AUSTIN R.-E., GARCIA J.-F., ROBERTS B.-M., LAWRENCE J.-H. — Plasma and red cell iron turnover in normal subjects and in patients having various hematologic disorders. *J. Clin. Invest.*, 29, 1041, 1950.
- HUTCHINSON H.-E. — The significance of stainable iron in sternal marrow sections ; its application in the control of iron therapy. *Blood*, 8, 236, 1953.
- KAPLAN E., ZUEZERX W. et MOURIQUAND C. — Sideroblasts : a study of stainable non homoglibin iron in marrow normo-Stain Technology, 24, 109, 1948.
- KENCH J.-E., GILLAM A.-E. et LANE R.-E. — Hematopoiesis in lead poisoning. *Biochem J.*, 1942, 36, 384. — *In Journ. Ind. Hyg. Tox.*, 1943, 25, 79.
- blasts. *Blood*, 9, 203, 1954.
- KOZEWSKI B.-J. — The occurrence of megaloblastic erythropoiesis in patients with hemocromatosis. *Blood*, 7, 1182, 1952.
- LANE R.-E. — The role of punctate basophilia in the controle of industrial plumbism. *Journal Ind. Med. Tox.*, 1931, 13, 276.
- LISON L. — Histochimie et cytochimie animales. Edition Gauthier-Villars, Paris, 1953.
- MAC FADZEAN A.-J.-S. et DAVIS L.-J. — Iron staining erythrocyte inclusion with special reference to acquired hemolytic anemia. *Glasgow Med. J.*, 28, 237, 1947.
- MAC FADZEAN A.-J.-S. et DAVIS L.-J. — *Quart. Journal of Medecin*, 17, n° 69, janvier 1949.
- MOURIQUAND C. et EDEL V. — Evolution du fer intraérythroblastique non hémoglobinique au cours du scorbut aigu expérimental chez le cobaye. Séance de la Société de Biologie de Lyon, 16 mai 1955.
- MOURIQUAND C. et EDEL V. — Recherches sur les granulations de fer intracytoplasmiques dans les érythroblastes de la moelle osseuse du cobaye normal. *C.R. Soc. Biolog.*, 148 : 1843, 1954.
- MOURIQUAND C. — Les anémies nutritionnelles du nourrisson. *Pédiatrie*, 9, 485, 1954.
- PAPPENHEIMER A.-M., THOMPSON W.-P., PARKER D.-D. et SMITH K.-E. — Anemia associated with unidentified erythrocytic inclusions, after splenectomy. *Quart. J. Med.*, 14, 15, 75, 1945.
- PIRRIE R. — The effect of splenecto and reticuloendothelial blockade upon the anemia of lead poisoning in guinea pigs. *The Journal of Path. et Bact.*, 64, 211, 1952.
- RATH C.-E. et FINCH C.-A. — Sternal Marrow hemosiderin. A method for the determination of available iron stores in man. *J. Lab. et Clinic. Med.*, 33, 81, 1948.
- REVOL L. et MOREL P. — Des anomalies cytoévolutives des érythroblastes dans le myélogramme des anémies ferriprives. *Lyon Méd.*, 184, 292, 1951.

- SCHWARTZ-TIENE E., CORDA C. et CARREDU. — Modifications du métabolisme des lipides et des porphyrines dans l'anémie méditerranéenne. *Minerva Pediatrica*, anno V, n° 19, octobre 1953.
- SIMON M. — Contribution à l'étude du métabolisme du fer au cours de l'anémie de Biermer. *Thèse*, Lyon, 1955.
- SUNDBERG R.-D. et BROMAN H. — The application of the prussian blue stain to previously stained films of blood and bone marrow. *Blood*, 10, 160, 1955.
- WATSON C.-J. — The erythrocyt coproporphyrin. *Arch. Int. Med.*, 86, 797, 1950.
- WATSON C.-J., GRINSTEIN M., HAWKINSON V. — Studies of protoporphyrin. *J. Clin. invest.*, 23, 69, 1944.

TABLE DES MATIERES

Introduction	11
Historique	13
La coloration du myélogramme par la méthode au bleu de Prusse	15
Examen des lames colorées par le bleu de Prusse	17
Les observations	25
Les cas normaux	25
Les anémies ferriprives	27
La thalassémie	38
Le saturnisme	41
Les anémies mégaloblastiques	48
Affections hépatiques	53
L'hémochromatose	56
Les anémies hémolytiques	57
Discussion et interprétation	59
Conclusions	69
Bibliographie	71

